Organizador
Edilson Antonio Catapan

CONHECIMENTOS CONTEMPORÂNEOS LIGADOS AS CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Vol. 01

São José dos Pinhais
BRAZILIAN JOURNALS PUBLICAÇÕES DE PERIÓDICOS E EDITORA
2021

Edilson Antonio Catapan
(Organizador)

Conhecimentos contemporâneos ligados as ciências agrárias

Vol. 01

Brazilian Journals Editora
2021

2021 by Brazilian Journals Editora
Copyright © Brazilian Journals Editora
Copyright do Texto © 2021 Os Autores
Copyright da Edição © 2021 Brazilian Journals Editora
Editora Executiva: Barbara Luzia Sartor Bonfim Catapan
Diagramação: Aline Barboza
Edição de Arte: Aline Barboza
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial:

Profª. Drª. Fátima Cibele Soares - Universidade Federal do Pampa, Brasil.
Prof. Dr. Gilson Silva Filho - Centro Universitário São Camilo, Brasil.
Prof. Msc. Júlio Nonato Silva Nascimento - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil.
Profª. Msc. Adriana Karin Goelzer Leining - Universidade Federal do Paraná, Brasil.
Prof. Msc. Ricardo Sérgio da Silva - Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.
Prof. Esp. Haroldo Wilson da Silva - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil.
Prof. Dr. Orlando Silvestre Fragata - Universidade Fernando Pessoa, Portugal.
Prof. Dr. Orlando Ramos do Nascimento Júnior - Universidade Estadual de Alagoas, Brasil. Profª. Drª. Angela Maria Pires Caniato - Universidade Estadual de Maringá, Brasil. Profª. Drª. Genira Carneiro de Araujo - Universidade do Estado da Bahia, Brasil.
Prof. Dr. José Arilson de Souza - Universidade Federal de Rondônia, Brasil.
Profª. Msc. Maria Elena Nascimento de Lima - Universidade do Estado do Pará, Brasil.
Prof. Caio Henrique Ungarato Fiorese - Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil.
Profª. Drª. Silvana Saionara Gollo - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Brasil.
Profª. Drª. Mariza Ferreira da Silva - Universidade Federal do Paraná, Brasil.
Prof. Msc. Daniel Molina Botache - Universidad del Tolima, Colômbia.
Prof. Dr. Armando Carlos de Pina Filho- Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.
Prof. Dr. Hudson do Vale de Oliveira- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Roraima, Brasil.
Profª. Msc. Juliana Barbosa de Faria - Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil.
Profª. Esp. Marília Emanuela Ferreira de Jesus - Universidade Federal da Bahia, Brasil.
Prof. Msc. Jadson Justi - Universidade Federal do Amazonas, Brasil.
Profª. Drª. Alexandra Ferronato Beatrici - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Brasil.
Profª. Msc. Caroline Gomes Mâcedo - Universidade Federal do Pará, Brasil.
Prof. Dr. Dilson Henrique Ramos Evangelista - Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil.
Prof. Dr. Edmilson Cesar Bortoletto - Universidade Estadual de Maringá, Brasil.
Prof. Msc. Raphael Magalhães Hoed - Instituto Federal do Norte de Minas Gerais, Brasil.

Profª. Msc. Eulália Cristina Costa de Carvalho - Universidade Federal do Maranhão, Brasil.
Prof. Msc. Fabiano Roberto Santos de Lima - Centro Universitário Geraldo di Biase, Brasil.
Profª. Drª. Gabrielle de Souza Rocha - Universidade Federal Fluminense, Brasil.
Prof. Dr. Helder Antônio da Silva, Instituto Federal de Educação do Sudeste de Minas Gerais, Brasil.
Profª. Esp. Lida Graciela Valenzuela de Brull - Universidad Nacional de Pilar, Paraguai.
Profª. Drª. Jane Marlei Boeira - Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Brasil.
Profª. Drª. Carolina de Castro Nadaf Leal - Universidade Estácio de Sá, Brasil.
Prof. Dr. Carlos Alberto Mendes Morais - Universidade do Vale do Rio do Sino, Brasil.
Prof. Dr. Richard Silva Martins - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul Rio Grandense, Brasil.
Profª. Drª. Ana Lídia Tonani Tolfo - Centro Universitário de Rio Preto, Brasil.
Prof. Dr. André Luís Ribeiro Lacerda - Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil.
Prof. Dr. Wagner Corsino Enedino - Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil.
Profª. Msc. Scheila Daiana Severo Hollveg - Universidade Franciscana, Brasil.
Prof. Dr. José Alberto Yemal - Universidade Paulista, Brasil.
Profª. Drª. Adriana Estela Sanjuan Montebello - Universidade Federal de São Carlos, Brasil.
Profª. Msc. Onofre Vargas Júnior - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Brasil.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C357c Catapan, Edilson Antonio

Conhecimentos contemporâneos ligados as ciências agrárias / Edilson Antonio Catapan. São José dos Pinhais: Editora Brazilian Journals, 2021.
215 p.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui: Bibliografia
ISBN: 978-65-86230-76-5

1. Plantio. 2. Cuidados na criação de animais. I. Catapan, Edilson Antonio II. Título

Brazilian Journals Editora
São José dos Pinhais – Paraná – Brasil
www.brazilianjournals.com.br
editora@brazilianjournals.com.br

Ano 2021

APRESENTAÇÃO

A obra intitulada “Conhecimentos contemporâneos ligados as ciências agrárias vol.1”, publicada pela Brazilian Journals Publicações de Periódicos e Editora, apresenta um conjunto doze capítulos que visa abordar aspectos voltados para à sobre plantio, cultivo, manejo, cuidados e criação de animais.

Logo, os artigos apresentados neste volume abordam: a identificação de fitonematoides associados a hortaliças, com ênfase na detecção de Meloidogyne spp. no município de Montes Claros, norte de Minas Gerais; propriedades físico-químicas e utilização da mucilagem de chia (Salvia hispanica L.) na redução de gordura em biscoitos; atividade antibacteriana e antibiofilme do extrato do cálice de *physalis* peruviana; morfologia do sistema digestivo de peixes presentes durante o outono no mercado Municipal de Paranaguá - Pr; padronização do cultivo do fungo filamentoso isolado A4 para a produção de lípases, entre outros.

Dessa forma, agradecemos aos autores por todo esforço e dedicação que contribuíram para a construção dessa obra, e esperamos que este livro possa colaborar para a discussão e entendimento de temas relevantes para a área de agrárias, orientando docentes, estudantes, gestores e pesquisadores à reflexão sobre os assuntos aqui apresentados.

Edilson Antonio Catapan

SUMÁRIO

CAPÍTULO 01 9
PERFIL DOS CONSUMIDORES DE CARNE BOVINA E BUBALINA NO MUNICÍPIO DE SANTARÉM
Ellen Patrícia Corrêa Lisboa
Albiane Sousa de Oliveira
Brena Peleja Vinholte
Raimundo Nonato Colares Camargo Júnior
DOI: 10.35587/brj.ed.0000960

CAPÍTULO 02 23
NEMATOIDES EM HORTALIÇAS NO NORTE DE MINAS GERAIS
Dandara Maria Clara do Rosário Barbosa
Wesley José Cardoso
Maria de Fátima Gonçalves Fernandes
Fernando da Silva Rocha
Maria de Fátima Silva Muniz
DOI: 10.35587/brj.ed.0000961

CAPÍTULO 03 33
CONTAMINAÇÃO POR FORMAS INFECTANTES DE ENTEROPARASITAS EM AMOSTRAS DE ALFACES (LACTUCA SATIVA) COMERCIALIZADAS NO ESPAÇO URBANO DE UM MUNICÍPIO DO TRIÂNGULO MINEIRO
Diego Rodrigues Naves Barbosa Lacerda
Adriano Silvério da Paixão Filho
Aldo Matos
DOI: 10.35587/brj.ed.0000962

CAPÍTULO 04 53
AVALIAÇÃO DOS RISCOS AMBIENTAIS EM UMA SALA DE ABATE DE UM ABATEDOURO DE BOVINOS NA PARAÍBA
Caio Franklin Vieira de Figueiredo
Paula Fernanda Barbosa de Araújo
Aliane Cristiane de Sousa Formiga
Francisco Fabrício Damião de Oliveira
Glaucio de Meneses Sousa
Saul Ramos de Oliveira
Daniele Aparecida Monteiro Ismael
Raiff Ramos Almeida Nascimento
DOI: 10.35587/brj.ed.0000963

CAPÍTULO 05 66
PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND USE OF CHIA MUCILAGE (SALVIA HISPANICA L.) IN THE REDUCTION OF FAT IN COOKIES.
Maria Clara Rocha
Maria da Penha Píccolo
Wilson César de Abreu
Antonio Manoel Maradini Filho
Maria de Fátima Píccolo Barcelos
DOI: 10.35587/brj.ed.0000964

CAPÍTULO 06 84
MANEJO NUTRICIONAL DE CÃES E GATOS E A INSERÇÃO DE ALIMENTOS ALTERNATIVOS NA DIETA DE PEQUENOS ANIMAIS DOMICILIADOS NO ESTADO DE RONDÔNIA, BRASIL
Denise Rufino Bragança
Edicarlos Oliveira Queiroz
Bruna Rafaela Caetano Nunes Pazdiora
Raul Dirceu Pazdiora
DOI: 10.35587/brj.ed.0000965

CAPÍTULO 07 94
ANÁLISE PRODUTIVA DE DOIS PERÍODOS DE SAFRA DO MARACUJAZEIRO AZEDO (PASSIFLORA EDULIS SIMS) NO ESTADO DE RONDÔNIA
Vanessa Gomes Dias
Kátia Daiane Gomes Dias
Celso Pereira de Oliveira
Edemar Menegaz Filho
DOI: 10.35587/brj.ed.0000966

CAPÍTULO 08 109
ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOFILM ACTIVITY OF PHYSALIS PERUVIANA CALYX EXTRACT
Maiara Taís Bazana
Marcos Vinícius Missel
Cassandra de Deus
Vandré Sonza Pinto
Cristiane Franco Codevilla
Roberto Christ Vianna Santos
Cristiane de Bona da Silva
Cristiano Ragagnin de Menezes
DOI: 10.35587/brj.ed.0000967

CAPÍTULO 09 121
EVALUACIÓN DE ESTIRPES BACTERIANAS PARA LA FORMACIÓN DE CONSORCIO PROBIÓTICO PARA USO EN EL CULTIVO DE CAMARONES MARINOS: LITOPENAEUS VANNAMEI
Marina Teresa Torres Rodríguez
Jéssica Lucinda Saldanha da Silva
Jade Oliveira Abreu
Sandra Rebeca Martins
Francisco Sylvanio F. da Silva
Fátima Cristiane Teles de Carvalho
Regine Helena S.F. Vieira
Oscarina Viana de Sousa
DOI: 10.35587/brj.ed.0000968

CAPÍTULO 10 140
STANDARDIZATION OF THE CULTIVATION OF THE ISOLATED FILAMENTOUS FUNGUS A4 FOR LIPASE PRODUCTION

Tatiana P. Costa
Paula V. D. Spencer
Mirian J. Souza
Adeline C. P. Rocha
David L. Nelson
Nísia A. V. D. Pinto
Vivian M. Benassi
DOI: 10.35587/brj.ed.0000969

CAPÍTULO 11 161
POTENCIAL ZOONÓTICO DA GIARDIOSE: UMA REVISÃO
Andrios da Silva Moreira
Natália Soares Martins
Sara Patron da Motta
Carolina Caetano dos Santos
Marcia Raquel Pegoraro de Macedo
Jerônimo Lopes Ruas
DOI: 10.35587/brj.ed.0000970

CAPÍTULO 12 179
MORFOLOGIA DO SISTEMA DIGESTIVO DE PEIXES PRESENTES DURANTE O OUTONO NO MERCADO MUNICIPAL DE PARANAGUÁ – PR
Wesley Silva da Rosa
Suelen Cunha Agostinho
Kátia Kalko Schwarz
DOI: 10.35587/brj.ed.0000971

CAPÍTULO 13 199
SISTEMA DE INFORMAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL: PERCEPÇÃO DE ESTUDANTES, PROFISSIONAIS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DA MEDICINA VETERINÁRIA E DE VETERINÁRIOS AUTÔNOMOS DO ESTADO DE SERGIPE QUANTO À NOTIFICAÇÃO OBRIGATÓRIADE DOENÇAS AO SERVIÇO VETERINÁRIO OFICIAL
Gabriela Mendes de Araújo
Paula Regina Barros de Lima
Kalina Maria de Medeiros Gomes Simplício
José Lopes da Silva Júnior
Kaila Angélica Alves dos Santos
Anna Giselle Cavalcanti Vaz Mendes Silva
Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco
DOI: 10.35587/brj.ed.0000981

SOBRE O ORGANIZADOR.....214

CAPÍTULO 01

PERFIL DOS CONSUMIDORES DE CARNE BOVINA E BUBALINA NO MUNICÍPIO DE SANTARÉM PROFILE OF BEEF AND BUFFALO MEAT CONSUMERS IN THE MUNICIPALITY OF SANTARÉM

Ellen Patrícia Corrêa Lisboa
Bacharel em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário da Amazônia
Endereço: Travessa Onze Horas, nº 322. Bairro Jardim Santarém. Santarém/PA, Brasil. CEP: 68030-530.
E-mail: ellenlisboa.medvet@gmail.com

Albiane Sousa de Oliveira
Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação (ppg) em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (UFMS)
Endereço: Passagem São Bernardo dos Campos, nº 64. Bairro Caranazal. Santarém/PA, Brasil. CEP: 68040-760.
E-mail: albianeoliveiramedvet@hotmail.com

Brena Peleja Vinholte
Mestre em Biociências pela Universidade Federal do Oeste do Pará
Centro Universitário da Amazônia
Endereço: Rua Rosa Vermelha, nº 335. Bairro Aeroporto Velho. Santarém/PA, Brasil. CEP: 68010-200.
E-mail: brenavinholte@hotmail.com

Raimundo Nonato Colares Camargo Júnior
Mestrado em Ciência Animal pela Universidade Federal do Pará
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, campus Santarém
Endereço: Avenida Castelo Branco, nº 621. Bairro Interventoria. Santarém/PA, Brasil. CEP: 68020-820
E-mail: camargojunior@gmail.com

RESUMO: As carnes bovino e a bubalina são alimentos indispensáveis na mesa do brasileiro, pois são fontes de elementos essenciais como proteínas e minerais. Dessa forma, compreender a preferência, hábitos e fatores que levam o consumidor a comprar esse alimento ajuda o mercado a atender com satisfação os clientes. Em sua maioria, o consumo pode estar relacionado a alguns fatores como: preço, local de compra, frequência de consumo, corte e principalmente fatores socioeconômicos. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o perfil dos consumidores e os fatores que influenciam no consumo de carne bovina e bubalina no município de Santarém, PA, Brasil. Para isso foi utilizada a metodologia de pesquisa do tipo *survey* com perguntas abertas e fechadas, através de questionários com 24 perguntas cada. A pesquisa foi realizada no período de agosto a novembro de 2019, com intuito de caracterizar o perfil dos entrevistados. As questões abordaram características como sexo, idade, estado civil, escolaridade, renda familiar, carne mais consumida e atributos observados no ato da compra. A população amostral foi de 270 pessoas conforme o cálculo de amostra com base na estimativa do número de habitantes, segundo o IBGE. Ao final da aplicação dos questionários, os dados foram tabulados e analisados. Os resultados revelam que a maioria dos entrevistados consome carne bovino-bubalina,

sendo a picanha o corte cárneo de maior preferência. No entanto, os consumidores compram diariamente o corte alcatra por ser um corte cárneo economicamente mais viável.

PALAVRAS-CHAVE: Hábito, consumo, entrevistados, preferência, descrição.

ABSTRACT: Beef and buffalo meat are indispensable food on Brazilians' tables, because they are sources of essential elements such as protein and minerals. Thus, to understand the preference, habits and factors that lead the consumer to buy that food helps market to attend the customers satisfactory. Most consumption can be related to some factors such as: price, place of purchase, frequency of consumption, cut and mainly socioeconomic factors. Therefore, the objective of this work was to evaluate the profile of consumers and factors that influence the consumption of beef and buffalo meat in the municipality of Santarém, PA, Brazil. For that, *survey* methodology with open-ended questions was employed, through questionnaires with 24 questions each. The survey was carried out from August to November 2019, aiming to characterize the profile of interviewees and questionsaddressed characteristics such as sex, age, marital status, education, family income, most consumed meat and attributes observed at the time of purchase. The sample population was 270 people according to the sample calculation based on the estimate of the number of inhabitants according toIBGE. At the end of the questionnaire applications, the data were tabulated and analyzed. Most of the interviewees consume beef and buffalo meat, with the rump cap being the most preferred meat cut. Nevertheless, consumers buy the rump cut every day because it is a more economically viable meat cut.

KEYWORDS: Habit, consumption, interviewees, preference, description.

1. INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira possui destaque positivo no agronegócio, dispondo de 213,5 milhões de cabeças. Isso representa o 2º maior efetivo, e coloca o Brasil em destaque como o 2º maior produtor e o maior exportador de carne bovina. No 3º trimestre de 2019, foram abatidos 8,49 milhõesde bovinos sob algum tipo de serviço de inspeção sanitária e 20,2 % do total de abates foi de responsabilidade da Região Norte. O país possui 1,39 milhão de búfalos, sendo que 66,4 % deste efetivo está na Região Norte, do qual 514.308 estão no Pará (IBGE, 2019; IPEA, 2019; MAPA, 2017).

Mundialmente encontram-se dificuldades na estimativa da bubalinocultura, pois em alguns países estes são declarados como bovinos e em números inferiores devido a questões tributárias. No Brasil, ainda existem informações divergentes quanto à produção e consumo de carne bubalina e os dados, na maioria das vezes, se confundem com as estatísticas de carne bovina. As projeções para o período de 2018/2019 a 2028/2029, mostram que a carne bovina estará em nível inferior de crescimento no consumo, em relação a outras carnes, com 1,0 % ao ano para os próximos anos, sendo a terceira carne mais consumida. (GONÇALVES, 2008; MAPA, 2019; MARQUES *et al.*, 2015).

É esperado que em 2020 a produção global alcance 61,9 milhões e as exportações 11,5 milhões de toneladas com crescentes embarques do Brasil, Índia, Estados Unidos e Argentina. Impulsionado pela forte demanda da China, o aumento da produção brasileira será apoiado principalmente pelas exportações, sendo esperado que o país seja responsável pela maior parte da expansão comercial no mundo com saídas recordes de 2,6 milhões de toneladas (USDA, 2020).

A carne tem um papel muito importante na alimentação dos seres humanos, pois é fonte de elementos essenciais que contribuem para o desenvolvimento e funcionamento do organismo, fornece proteínas de alto valor biológico e constitui a maior fonte de vitaminas como a tiamina, niacina, riboflavina, B6 e B12. Outra contribuição nutricional é a oferta de minerais, principalmenteo ferro, importante para as funções do organismo e à formação de parte da hemoglobina dos glóbulos vermelhos, assim como o zinco, que contribui no desenvolvimento de várias funções imunológicas e para o crescimento (LIRA, 2005; MACIEL, 2018).

Nas últimas décadas pode-se observar mudanças em relação à preferência dos consumidores. Diversos fatores contribuíram para isso, dentre eles a globalização, que aumentou a velocidade do fluxo de informações, o que deixa os consumidores

mais seletivos e cada vez mais preocupados com a forma de produção e processamento, armazenamento, embalagem, método de conservação e teor nutricional, além de fatores ligados ao bem-estar animal, preservação do meio ambiente e a produtos que não geram danos à saúde (VENDRUSCOLO, 2019).

O hábito de comprar carne varia de indivíduo para indivíduo. A maioria costuma comprar carnes expostas em bancadas sem processo industrial de embalagens, consideradas como carne fresca, que aparentam ter boa qualidade, estejam refrigeradas e em ambiente higiênico, além do preço atraente. É levada em consideração, também, a ocasião em que será consumida, as pessoas envolvidas, a cor, o corte e o marmoreio. Porém, somente depois de consumir o alimento é que esses indivíduos se sentirão satisfeitos ou não (LEITE, 2018; MENDES, 2018).

Essas exigências feitas pelo consumidor são o que influenciam o processo industrial, ou seja, estabelecimentos que não observam as mudanças que ocorrem no mercado se tornam menos competitivos. Dessa forma, as empresas estão buscando ter produtos politicamente corretos, de alta qualidade, atendendo às exigências do consumidor, e que não destruam ou contaminem o meio ambiente (ALBUQUERQUE, *et al*., 2017).

As exigências citadas anteriormente são feitas, em sua maioria, pelos consumidores de carnebovina e isso se dá devido à desinformação dos consumidores quanto aos benefícios e características sensoriais e organolépticas da carne de búfalo. Apesar do estado do Pará possuir um grande rebanho de bubalinos, poucos consumidores paraenses consomem e possuem conhecimento sobre as características dessa carne, sendo necessárias medidas que levem informação à sociedade (MARQUES *et al*., 2015).

Neste contexto, são necessários estudos que levantem informações sobre o perfil do consumidor de carne de origem bubalina e da bovinocultura, que apontem tendências e perspectivas em relação ao comportamento desse consumidor, permitindo orientar o trabalho de produção e comercialização. Portanto, o presente estudo teve como objetivo identificar o comportamento dos consumidores de carne bovina e bubalina no município de Santarém-PA, conhecer os aspectos socioeconômicos e identificar as preferências quanto aos cortes e quais são os mais consumidos.

2. METODOLOGIA

Foi utilizada a metodologia de pesquisa do tipo *survey*, com perguntas abertas e fechadas, com o intuito de obter dados qualitativos e quantitativos durante o período de agosto a novembro de 2019. A população amostral foi composta por 270 pessoas, conforme o cálculo de amostra com base na estimativa do número de habitantes, que é aproximadamente 302.667 segundo as estimativas do IBGE, considerando uma margem de erro de 5 % para mais ou para menos, e 90 % de confiabilidade. A pesquisa foi realizada na zona urbana do município de Santarém, município localizado no Oeste do Pará, com indivíduos que se encontravam comprando as carnes em mercados, supermercados, açougues, casa atacadista, postos de venda e feiras, com maior fluxo sendo realizado durante a semana, em horários diferentes.

Os entrevistados foram selecionados aleatoriamente e de forma voluntária enquanto estavam em frente às gôndolas de carnes. Os questionários formulados continham perguntas como sexo, idade, estado civil, escolaridade e renda familiar, para caracterizar o perfil dos entrevistados. Também foram questionados em relação às ocasiões de consumo da carne, qual o tipo de carne consumido, frequência de consumo, o que era levado em consideração durante a compra, a importância de um produto com certificação e quais os cortes mais preferidos e consumidos.

3. ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram submetidos à análise estatística descritiva, com foco na distribuição de frequência relativa das respostas, por meio do programa Excel versão Office 2019. Já os resultados de maior relevância foram analisados pelo PROC GLIMMIX do SAS University Edition e, de acordo com sua distribuição binominal ou Poisson, adotou-se $\alpha = 0,05$ para o erro tipo I e os valores foram considerados significativos quando $p<0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os consumidores entrevistados, 62 % pertenciam ao sexo masculino e 38 % ao feminino, possuindo idade entre 18 e 72 anos. Do total da amostragem, 59,6% possuía idade de 18 a 40 anos. Quanto à escolaridade, 56,70 % possuía o segundo grau, seguido de 34,40 % que possui o terceiro grau e 8,50 % com o primeiro grau. No que se refere à renda, 36 % dos consumidores afirmaram ganhar entre R$1.997,00 e R$3.992,00, seguidos dos que ganham acima de R$5.989,00 (22,60 %)

e daqueles que ganham até R$1,996.00 (21 %), conforme resultados apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Características socioeconômicas dos consumidores de carne bovina e bubalina do município de Santarém, estado do Pará.

Características	Perfil	N	%
Sexo	Masculino Feminino	167 103	62 38
Idade	<20 21-30 31-40 41-50 > 50	7 73 81 61 48	2,60 27 30 22,60 12,80
Escolaridade	Analfabeto 1° Grau 2° Grau 3° Grau	1 23 153 93	0,40 8,50 56,70 34,40
Renda Familiar (*SM)	<2 SM (0 a R$1,996) 2 a 4 SM (R$ 1,997 a R$3,992) 4 a 6 SM (R$3,993 a R$5,988) >6 SM (a cima de R$5,989)	57 97 55 61	21 36 20,40 22,60
SM = Salário Mínimo vigente R$998, referente ao ano de 2019.			

FONTE: Dados da Pesquisa.

Quando os entrevistados foram questionados quanto à carne mais consumida (Tabela 2), a maioria do público relatou consumir a carne bovina/bubalina (67 %), seguida da carne de frango (19,62 %), pescado (12,60 %) e outros (0,74 %). Resultados similares foram descritos por Aguiar *et al*. (2018) no município de Castanhal, onde 56,88 % tiveram preferência de consumo pela carne bovina, 36,87 % pela carne de frango, 5 % pelo pescado e 1,25 % pela carne caprina. Tavares et al. (2017), ao analisarem o consumo e preferência na aquisição de carne suína no município de Paragominas, identificaram que a carne era bem aceita, porém a carne mais consumida ainda era a bovina (61,60 %), seguida do frango (35,20 %) e de pescados (2,80 %).

Apesar dos dados de consumo encontrados, a carne de pescado é considerada a mais saudável (Tabela 2) por 72,60 % dos entrevistados. Coelho *et al*. (2017), em seu trabalho, entrevistaram 923 pessoas e 43,1 % destas disseram consumir peixe pelo fator saúde, o que relaciona o peixe como alimento mais saudável e por seu consumo contribuir para uma saúde de melhor qualidade. Lopes *et al*. (2016) verificaram que, na Região Norte, os indivíduos entrevistados, em sua maioria, afirmaram que a

dificuldade encontrada para o consumo diário de peixe estava relacionado ao custo desse alimento, o que justifica o motivo pelo qual as pessoas preferem consumir outras carnes mesmo considerando o pescado o mais saudável.

Em relação à frequência do consumo de carne bovina/bubalina, como mostra a Tabela 2, foi observado que a maioria dos indivíduos entrevistados (55,92 %) consumiam essas carnes, de 2 a 3 vezes na semana, 26,3 % mais de três vezes, 10 % todos os dias e apenas 7,78 % consumia 1 vez aodia ou esporadicamente. Amaral *et al*. (2016), ao avaliarem o perfil dos consumidores em Sobral, no Ceará, perceberam que a maioria dos entrevistados possuía o hábito de consumir carne de 3 a 4 vezes na semana. Os resultados revelam que essa proteína está presente na dieta alimentar de todos os entrevistados, sendo a carne mais consumida durante a semana.

Tabela 2: Frequência de consumo da carne durante a semana e tipos de carnes consumidas e consideradas saudáveis pelos entrevistados.

Características	Perfil	N	%
Carne mais consumida	Bovino/Bubalino	181	67
	Frango	53	19,62
	Peixe	34	12,60
	Outros	2	0,74
Considera mais saudável	Bovino/Bubalino	17	6,30
	Suíno	18	6,66
	Aves	39	14,44
	Peixe	196	72,60
Frequência de consumo na semana	Esporádico ou 1 vez	21	7,78
	2 a 3 vezes	151	55,92
	Mais de 3 vezes	71	26,30
	Todos os dias	27	10

FONTE: Dados da Pesquisa.

No que se refere ao local de compra (Tabela 3), o mais preferido pelos participantes da pesquisa foi os açougues (57,03 %), em seguida os mercados e supermercados (21,11 %) e, por fim, outros locais (14,45 %) e feiras (7,41 %). Porém, os dados encontrados diferem de Kirinus *et al*. (2013), que não observaram diferença significativa quanto a essa variável. Dias *et al*. (2015), ao estudarem o padrão de

consumo de carne em Campo Grande – MS, observaram que os supermercados (45,69 %) eram os mais escolhidos pelos consumidores, acompanhados dos mercados (22,61 %), açougues (3,26 %) e outros (3,26 %). Essa divergência de dados pode estar relacionada ao hábito cultural de cada região do país.

Um dos principais motivos que influenciam a tomada de decisão do local de compra é a higiene (28,14 %), seguida do preço (25,19 %), confiança no estabelecimento (18,14 %), proximidadeda residência (16,29 %), tamanho e aspecto do estabelecimento (12,22 %), conforme mostram os resultados na tabela 3. Fanalli (2018), ao mensurar a opinião da população e a percepção do consumidor com relação à segurança alimentar em Uberlândia, observou que as principais razões citadas foram comodidade e praticidade, além de fatores como conhecer o proprietário e higiene do local.

Durante a compra do produto cárneo, alguns atributos são levados em consideração pelo consumidor. 48,14 % responderam que observam primeiramente a cor/aspecto da carne, enquanto 36,30 % observavam a higiene do ambiente onde a carne se encontra, 10,74 % consideraram o preço como fator decisivo, 4,44 % reparavam a embalagem, pois conseguiam verificar algumas informações como a validade do produto e apenas 0,38 % não viam nenhum desses fatores – Tabela 3. Borges *et al*. (2020), em seu trabalho, realizado no município de Uruçuí-PI, analisaram que 18 % dos entrevistados consideravam importante a aparência da carne, seguido por preço (17 %) e cor da carne (16 %). Estes dados demonstram que os consumidores estão mais atentos para a apresentação da carne do que o fator preço.

Tabela 3: Preferência quanto ao local de compra e, motivo da decisão, e atributo que o consumidor observa no momento da compra.

Características	Perfil	N	%
Local de Compra	Açougue	57	21
	Feiras	97	36
	Mercados e Supermercados	55	20,40
	Outros	61	22,60
Fator que afeta a Decisão do local de compra	Preço	68	25,19
	Tamanho e Aspecto do Local	33	12,23
	Higiene	76	28,14
	Procedência	49	18,14
	Proximidade	44	16,30
Observa ao comprar a carne	Cor/Aspecto da Carne	130	48,14
	Embalagem	12	4,44
	Preço	29	10,74
	Higiene	98	36,30
	Não Observa Nenhum dos Fatores acima	1	0,38

FONTE: Dados da Pesquisa.

Quando os consumidores foram questionados se sabiam o que era inspeção, 12,97 % afirmaram não saber, enquanto 87,03 % disseram que sabem sobre o assunto. Dos que afirmaram ter conhecimento, apenas 62,56 % verificavam a presença do selo de inspeção no momento da compra.Em um estudo realizado em Jataí, município de Goiás, Abujamra *et al*. (2017) destacam que, de 100 entrevistados, 34 % não se importavam com selo de inspeção, sendo que 19 % desconheciam ou nãopossuíam opinião sobre o assunto. Velho *et al*. (2009) supõem, em seu trabalho, que a predominância de entrevistados com escolaridade média (2° grau), pode ter afetado sobre o conhecimento quanto a produtos com certificação.

Foi possível observar que o conhecimento quanto às diferenças da carne de boi e búfalo ainda são pequenas. Conforme resultados da tabela 4, quando perguntados se sabiam fazer essa diferenciação no momento da compra, 65,93 % afirmaram não saber distinguir. Pontes *et al*. (2018) relataram no seu trabalho que, de 120 entrevistados, 7,4 % disseram não gostar da carne de búfalo, porém, 66,7 % disseram que nunca consumiram e 22,2 % relataram que a disponibilidade da carne bubalina é esporádica. Marques *et al.* (2013) ressaltaram que a falta de disponibilidade do produto no local de venda pode estar relacionada ao desconhecimento do mercado consumidor e a possíveis fraudes com a alteração da

rotulagem devido à similaridade com a carne bovina.

Tabela 4: Conhecimento sobre certificação e diferença entre carne bovina e bubalina.

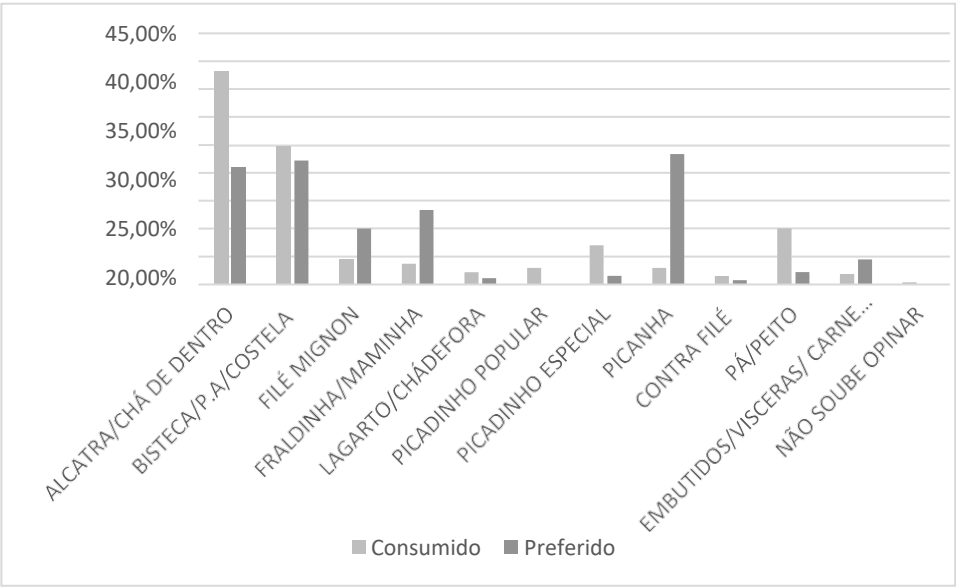
Características	Perfil	N	%
Sabe o que é inspeção?	Sim	235	87,03
	Não	35	12,97
Sabe diferenciar carne bovina da bubalina?	Sim	92	34,07
	Não	178	65,93

FONTE: Dados da Pesquisa.

Com o intuito de avaliar a preferência quanto aos cortes cárneos (Figura 1), 23,33 % dos entrevistados, ao serem questionados, tiveram predileção pela picanha, 22,22 % optaram pelo conjunto bisteca/ponta de agulha/costela e 21,11 % pela alcatra/chã de dentro. Com relação aos cortes mais consumidos, foi observado que o mais comprado foi o conjunto alcatra/chã de dentro, com 38,14 %. As respostas foram suficientes para identificar diferença estatística ($p<0,05$) ao relacionar os cortes mais consumidos com a renda, ou seja, o corte mais consumido pela populaçãoestudada está diretamente relacionado à renda dos consumidores.

Nascimento *et al*., (2018) relataram que os cortes preferidos geralmente são considerados cortes de primeira e não são comprados diariamente devido ao seu valor estar acima da média dos demais cortes. Dessa forma, a renda da população analisada foi o principal fator limitante na aquisição dos cortes preferidos já que a maioria possuía renda de um a três salários mínimos.

Figura 1: Relação entre cortes cárneos preferidos e consumidos dos consumidores de carne bovina e bubalina do município de Santarém.



FONTE: Dados da Pesquisa.

5. CONCLUSÃO

Os indivíduos tornam-se cada vez mais exigentes em relação ao produto consumido, e suas exigências são o que determina o processo industrial. As empresas que não acompanham as mudanças que ocorrem no mercado se tornam menos competitivas, e para que seja possível acompanhar essas mudanças se faz necessário conhecer o comportamento do consumidor final e suas necessidades.

Sendo assim, pesquisas como esta são fundamentais para apontar as principais mudanças que acontecem entre os consumidores. O presente trabalho apontou que a maioria dos entrevistados consomem principalmente carne bovina/bubalina com uma frequência de duas a três vezes na semana. Porém, a carne de peixe foi considerada pelos entrevistados a carne mais saudável. Em relação à decisão do local de compra da carne bovina, a higiene do ambiente foi o principal fator levado em consideração, o que indica que esse fator pode levar à fidelização dos consumidores.

Além disso, o corte cárneo de maior preferência foi a picanha. Porém, o que mais é consumido durante a semana é o conjunto alcatra/chã de dentro, pela diferença de valores entre eles, o que mostra que a renda dos entrevistados foi o fator limitante na aquisição do corte cárneo.

Os dados abordados neste estudo podem ser fundamentais para contribuir e fomentar as investigações em relação ao perfil dos consumidores de carne bovina/bubalina no município de Santarém, ajudando as indústrias e empresas a visualizarem as mudanças de comportamento dos consumidores finais.

REFERÊNCIAS

ABUJAMRA, T.; JUNIOR, A. da S. F.; PRADO, N. F. de O. Percepção dos consumidores em relação à segurança dos alimentos cárneos no município de Jataí - GO. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 24, n.1, p. 9-16, Campinas, 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.20396/san.v24i1.8648081

AGUIAR, K. H. O.; MORAIS, M. C.; REIS, M. B. dos C.; SOARES, B. C.; MONTEIRO, B. M. Consumidor Final De Carne Bovina: Características E Hábitos Em Castanhal-PA. In. III CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS (COINTER - PDVAGRO 2018): **Anais.** 3. ed. Paraíba, 2018. DOI: 10.31692/2526-7701

ALBUQUERQUE, I. R. R. de; GOIS, G. C.; CAMPOS, F. S.; SILVA, T. S.; MATIAS, A. G. da S. Pesquisa de mercado: Hábitos de compra e consumo de carne em Senhor do Bom Fim – Bahia. **Nutri Time Revista Eletrônica**, Vol. 14, N° 02, mar. / abr. de 2017.

AMARAL, P. H. R. do; NETO, T. A. X.; GUIMARÃES, V. P.; ANDRADE, P. L. Perfil Do Consumidor De Carne Bovina Na Cidade De Sobral – CE. **Revista Higiene Alimentar**, V.30, n. 252/253, p 75-79, Janeiro/Fevereiro de 2016.

BORGES, C. B.; NETO, T. B. N.; CALVACANTE, J. M. M. Perfil do consumidor de carne bovinano município de Uruçuí-PI. **PUBVET**, v.14, n.3, p.1-9, 2020. DOI: https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n3a527.1-9

COELHO, A. C. de S.; JUNIOR, C. H. F.; SOUSA, K. N. S. Fatores Que Influenciam A Compra De Peixes Por Classe Social No Município De Santarém-PA. **Revista Agroecossistemas**, v. 9, n. 1,p. 62 – 83, 2017. doi: http://dx.doi.org/10.18542/ragros.v9i1.4773

DIAS, L. D. B.; ISERNHAGEN, L.; BRUMATTI, C.; FARIA, F. J. C.; FRANCO, G. L.; KIEFER, C.;ÍTAVO, C. C. B. F. Estudo Sobre O Padrão De Consumo Da Carne Bovina Na Cidade De CampoGrande, MS, BRASIL. **Boletim de Indústria Animal**, v. 72, n.2, p. 148-154, Nova Odessa, 2015. DOI: 10.17523/bia.v72n2p148

FANALLI, S. L. Perfil De Consumo E Percepção Dos Consumidores De Carne: ConsequênciasSobre A Saúde Pública. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**, v.31, nãopaginado, 2018. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/7YgU5DLnagIDsVr_2018-9-19-8- 41-24.pdf

GONÇALVES, O. **Características de criações de búfalos no Brasil e a contribuição do marketing no agronegócio bubalino.** 2009. Tese (Doutorado em Qualidade e Produtividade Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo,Pirassununga, 2009. doi:10.11606/T.74.2009.tde-19022009-113852. Acesso em: 2020-05-13.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro, v. 47, p. 1-50, 2019. Disponível em: https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/com_mediaibge/arquivos/9130d7d3e67662a2277b97bde61a52d0.pdf

IPEA - INSTITUTO DE PESQUISA ECONOMICA APLICADA. INSERÇÃO NOMERCADO INTERNACIONAL E A PRODUÇÃO DE CARNES NO BRASIL. In:. Texto Para Discussão. 2479. ed. Rio de Janeiro: Ipea, 2019. p. 1-50. Disponível em: http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/9285/1/TD_2479.PDF

KIRINUS, J. K.; FRUET, A. P. B.; KLINGER, A. C. K.; DÖRR, A. C.; NÖRNBERG, J. L. Relação entre faixas de renda e o perfil dos consumidores de carne bovina da região sul do Brasil. **Revista Monografias Ambientais (REMOA/UFSM)**, v. 12, n. 12, p. 2776-2784, 2013. http://dx.doi.org/10.5902/2236130810424

LEITE, B. F. C. **Fatores Relacionados Ao Consumo De Carne Bovina Pela População De Campo Grande – MS.** 2018. 42f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal De Mato Grosso Do Sul. Campo Grande, 2018.

LIRA, G. M.; MANCINI FILHO, J.; TORRES, R. P.; OLIVEIRA, A. C. de; VASCONCELOS, A. M. A.; OMENA, C. M. B. de; ALMEIDA, M. C. S. de. Composição centesimal, valor calórico, teorde colesterol e perfil de ácidos graxos da carne de búfalo (*Bubalis bubalis*) da cidade de São Luiz do Quitunde-AL. **Revista Institucional Adolfo Lutz,** v.64, n.1, p. 31-38, 2005. Disponível em: http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v64n1/v64n1a05.pdf

LOPES, I. G.; OLIVEIRA, R. G. de; RAMOS, F. M. Perfil do consumo de peixes pela população brasileira. **Biota Amazônia**, v. 6, n. 2, p. 62-65, Macapá,2016. DOI: http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v6n2p62-65

MACIEL, M.; SUÑE, L.; OLIVEIRA, S. H.; O BEM ESTAR ANIMAL E O CONTROLE DE QUALIDADE DE CARNE BOVINA. Revista da Jornada de **Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp**, p. 638-652, 2018.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Dados de rebanho bovino ebubalino no Brasil – 2017. Ano 2018. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/febre- aftosa/documentos-febre-aftosa/DadosderebanhobovinoebubalinodoBrasil_2017.pdf

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. BRASIL PROJEÇÕES DOAGRONEGÓCIO 2018/19 a 2028/2029. 10ª edição. Ano 2019. Disponível em: < http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_estatistico/Projecao_do_Agronegocio_2 018_2019_a_2028_29.pdf>

MARQUES, C. S. S.; OAIGEN, R. P.; MORAES, C. M. de; SANTOS, M. A. S.; JÚNIOR, J. de. B. L.; ABEL, I. Perfil dos consumidores da carne de búfalo, em Belém, Pará, Brasil. ***ActaVeterinaria Brasilica***, v.9, n.2, p. 126-133, 2015. doi:10.21708/avb.2015.9.2.4662.

MARQUES, C. S. S.; OAIGEN, R. P.; MORAES, C.M.; TAVARES, R. E. B.; LIMA, M.M.; MIRANDA, A. S. Caracterização da Cadeia Produtiva Bubalina no Brasil: Rebanho, Abates e Limitações. In: X CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 2013, Belém. **Anais** ... Belém: XXXVII Semana do Médico Veterinário do Pará-SEMAVET,2013. p. 173-188.

MENDES, N. S. **Percepção Dos Consumidores Em Relação Á Pratica De Preços Da Carne Bovina No Supermercado Tropical Center.** 2018. 39f. Monografia (Licenciatura em Geografia) - Universidade Federal de Mato Grosso Campus Universitário de Rondonópolis, Rondonópolis, 2018.

NASCIMENTO, J. D.; OLIVEIRA, D. M. de; ROCHA, T. de O. F.; ROHOD, R. V.; PIAZZON, C. J.; ESCOBAR, L. S. Perfil do consumidor de carnes do Alto Pantanal sul-mato-grossense. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, p. 1-9, 2018. DOI: 10.7213/1981-4178.2018.16005

PONTES, V. P.; ESTRELA, A. R.; ARAÚJO, L. C. Diagnóstico do perfil do consumidor de carnede búfalo no município de Marabá, PA. **PUBVET**, v.12, n.12, p.1-4, 2018. DOI: https://doi.org/10.31533/pubvet.v12n12a233.1-4

TAVARES, A. F.; OLIVEIRA, R. A.; MORAIS, M. C.; GARBOSSA, C. A. P.; TRINDADE, P. C. Caracterização de consumo e preferências na aquisição da carne suína no município de Paragominas, Pará. In. Congresso de Zootecnia da Amazônia (CZA); Seminário de Ensino de Zootecnia da Amazônia; Encontro de Pós-Graduação em Zootecnia da Amazônia; Encontro de Zootecnistas da Amazônia: **Anais** 1. ed. Paragominas: EDUFRA, 2017.

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Livestock and Poultry: World Markets and Trade. p. 1-16, 2020. Disponível em: https://downloads.usda.library.cornell.edu/usda-esmis/files/73666448x/sb397r25n/0z709c25b/livestock_poultry.pdf

VELHO, J. P.; BARCELLOS, J. O. J.; LENGLER, L; ELIAS, S. A. Disposição dos consumidoresporto-alegrenses à compra de carne bovina com certificação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 2, p. 399-404, 2009. DOI: https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000200025

VENDRUSCOLO, A. B. **Reflexo Dos Escândalos Alimentares Na Confiança Dos Consumidores De Carne Bovina No Brasil.** 2019. 47f. Dissertação (Mestrado em Agronegócio) -Faculdade de Administração, Ciências Contábeis e Economia, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2019. Disponível em: http://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/handle/prefix/1290

CAPÍTULO 02

NEMATOIDES EM HORTALIÇAS NO NORTE DE MINAS GERAIS

Dandara Maria Clara do Rosário Barbosa
Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG
Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros
Endereço: Avenida Universitária, 1.000, Bairro Universitário, Montes Claros-MG, CEP 39.404-547, Brasil
E-mail: dandarabarbosa@hotmail.com

Wesley José Cardoso
Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG
Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros
Endereço: Avenida Universitária, 1.000, Bairro Universitário, Montes Claros-MG, CEP: 39.404-547, Brasil
E-mail: wesleyjosecardoso@hotmail.com

Maria de Fátima Gonçalves Fernandes
Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Montes Claros-UNIMONTES
Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros
Endereço: Avenida Universitária, 1.000, Bairro Universitário, Montes Claros-MG, CEP: 39.404-547, Brasil
E-mail: fatimagf@gmail.com

Fernando da Silva Rocha
Doutor em Agronomia/Fitopatologia pela Universidade Federal de Lavras-UFLA
Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros
Endereço: Avenida Universitária, 1.000, Bairro Universitário, Montes Claros-MG, CEP: 39.404-547, Brasil
E-mail: rochafs@ufmg.br

Maria de Fátima Silva Muniz
Doutora em Agronomia (Fitopatologia) pela Universidade Federal de Lavras-UFLA
Instituição:Universidade Federal de Alagoas/Centro de Engenharias e Ciências Agrárias - UFAL/CECA
Endereço: BR 104 Norte, Km 85, Zona Rural, Rio Largo, AL, CEP: 57100-000, Brasil
E-mail: mf.muniz@uol.com.br

ABSTRACT: Plant-parasitic nematodes are frequently associated with vegetables causing yield losses. There is little information on the occurrence of these pathogens in the state of Minas Gerais, Brazil. The objective of this work was to identify plant-parasitic nematodes associated with vegetable crops, focusing on the detection of *Meloidogyne* spp. in commercial production areas located in the municipality of Montes Claros, Northern Minas Gerais, Brazil. Soil and roots samples were collected from 15 farms including 19 vegetable crops. Nematodes were extracted from soil and identified to genus level, and the roots were assessed for gall index. In soil samples, the genera *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus* spp., *Rotylenchulus* spp.,

Criconemoides spp., *Pratylenchus* spp. and *Tylenchus* spp. were observed in a percentage of 46.1; 31.8; 11.8; 7.4; 6.4 and 3.6 %, respectively. The average gall index in vegetable crops were: squash (4.5), lettuce (2.2), eggplant (9.3), beetroot (2.4), broccoli (1.9), carrot (0.3), coriander (2.6), cabagge (0.3), cauliflower (1.2), spinach (2.0), beans (2.8), scarlet eggplant (3.3), gherkin (1.9), cucumber (3.0), pepper (3.3), okra (2.3), arugula (0.7), parsley (3.7) and tomato (3.3).

KEYWORDS: *Meloidogyne* spp., occurrence, infectivity, olericulture.

RESUMO: Os fitonematoides estão comumente associados a hortaliças causando perdas. No estado de Minas Gerais existe carência de informações sobre a ocorrência desses patógenos. O objetivo deste trabalho foi identificar fitonematoides associados a hortaliças, com ênfase na detecção de *Meloidogyne* spp. no município de Montes Claros, norte de Minas Gerais. Foram coletadas amostras de solo e raízes em 15 propriedades, envolvendo 19 espécies de hortaliças. As amostras de solo foram processadas e os fitonematoides identificados em nível de gênero e as raízes foram avaliadas com relação ao índice de galhas. Nas amostras de solo, os gêneros *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus* spp., *Rotylenchulus* spp., *Criconemoides* spp., *Pratylenchus* spp. e *Tylenchus* spp.foram observados em uma porcentagem de 46,1; 31,8; 11,8; 7,4; 6,4 e 3,6 %, respectivamente. As culturas amostradas apresentaram os seguintes índices médio de ga lhas: Abóbora (4,5), Alface (2,2), Berinjela (9,3), Beterraba (2,4), Brócolis (1,9), Cenoura (0,3), Coentro (2,6), Couve (0,3), Couve Flor (1,2), Espinafre (2,0), Feijão (2,8), Jiló (3,3), Maxixe (1,9), Pepino (3,0), Pimentão (3,3), Quiabo (2,3), Rúcula (0,7), Salsa (3,7) e Tomate (3,3).

PALAVRAS-CHAVE: *Meloidogyne* spp., ocorrência, infectividade, olericultura.

1. INTRODUCTION

Vegetable crops are an important source of food plenty in protein, vitamins, minerals and fiber. In 2018, Brazil accounted for approximately 3 million tons of vegetables freshness (FAOSTAT, 2020). However, despite its importance, vegetable production is affected by several pathogens, including plant-parasitic nematodes which represent an important limiting factor to these crops. Of particular importance are the root-knot nematodes *Meloidogyne* spp., followed by others such as the root-lesion nematodes *Pratylenchus* spp., stem and bulb nematode [*Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev], reniform nematode *Rotylenchus reniformis* Linford & Oliveira, dry rot of tubers [*Scutellonema bradys* (Steiner & LeHew) Andrassy] and the spiral nematode (*Helicotylenchus dihystera* (Cobb) Sher (PINHEIRO, 2017).

The state of Minas Gerais is the second largest vegetable producer in Brazil. It has a planted area of around 120 thousand ha and an estimated production of 3.5 million tons of more than 50 species of vegetables annually. It is believed that cultivation of vegetables in the state generates about 120 thousand direct and indirect jobs and that the gross value of production is of US$ 1 billion (EMATER, 2017). In the state of Minas Gerais, vegetables are mainly produced in the regions of the Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba and municipalities in the metropolitan region of Belo Horizonte, while the northern of Minas Gerais stands out on the state horticultural map. In the municipality of Montes Claros, northern region of Minas Gerais, the green belt for vegetable production is located mainly in the counties of Planalto Rural, followed by Lagoinha and Nova Esperança, which are still expanding and targeting the domestic market. However, despite their economic importance, there is little information on current nematode prevalence in the vegetable farming areas within the state. Such information is required in order to implement adequate strategies for nematode management to reduce yield losses. In view of this, the objective of this work was to identify plant-parasitic nematodes associated with vegetable crops, focusing on the detection of *Meloidogyne* spp. in commercial planting areas located in the municipality of Montes Claros-MG, Brazil.

2. MATERIAL AND METHODS

The survey was carried out from April to September 2018, in 15 sites located in the Planalto Rural in the municipality of Montes Claros, Northern Minas Gerais, Brazil. The climate of the region is characterized as Aw-tropical savanna with dry winter and

rainy summer according to Köppen classification (ALVARES et al., 2013). The survey included the following vegetable crops: squash (*Cucurbita pepo* L.), cucumber (*Cucumis sativus* L.), gherkin (*Cucumis anguria* L.) (Cucurbitaceae); lettuce (*Lactuca sativa* L.) (Asteraceae), beetroot (*Beta vulgaris* L.) (Chenopodiaceae), carrot (*Daucus carota* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.), parsley (*Petroselinum crispum* Hoff) (Apiaceae); cabagge (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.), cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L), broccoli (*Brassica oleracea* L. *var*. *italica Plenk), arugula* (*Eruca sativa* L.) (Brassicaceae), spinach (*Spinacia oleracea* L.) (Amaranthaceae), beans (*Phaseolus vulgaris* L.) (Fabaceae), okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) (Malvaceae); eggplant (*Solanum melogena* L.), scarlet eggplant (*Solanum gilo* Raddi), pepper (*Capsicum annuum*L.), and tomato (*Solanum lycopersicum* L.) (Solanaceae).

Following the systematic zigzag pattern, soil samples were collected in the root zone to a depth of 15 to 20 cm. For root sampling, three plants from each vegetable crop were removed from the soil, and a portion of the root system was detached. Approximately 60 g of soil and 10 g of roots were taken. Subsequently, the subsamples were mixed and composite samples of approximately 80g of roots and 500 g of soil were packed in plastic bag, labeled and taken to laboratory for processing.

Soil samples were also used for analyses of physical and chemical characteristics, according to EMBRAPA (1997). Moreover, in each area, sampling points were georeferenced and the data weresubmitted to Google Earth computational program, for spatial visualization of the infested and non-infested fields.

Nematodes were extracted in triplicate 100 cm^3 of soil by the method of fluctuation-sieving-centrifugation (JENKINS, 1964). The soil was stirred in 600 ml of water for 60 s, left to rest for 20 s,then passed through a 325-mesh sieve. Then, the nematode suspensions were centrifuged at 141g for 5 min, and subsequently the supernatants were discarded, and their sediments were added with 1M sucrose solution for further centrifugation for 60 s. Nematodes from the supernatants were collected by a 325-mesh sieve and washed. After extraction, nematodes were counted on a Peters slide under light microscope. All nematodes were identified to the genus level (MAI and MULLIN, 1996; FERRAZ, 2016).

In the laboratory, roots were carefully washed in order to observe symptoms of galls. Roots were visually assessed using a gall index (0-10): 0 = no galls on roots and 10=all roots severely knotted; no root system; plant usually dead (BRIDGE and PAGE, 1980).

3. RESULTS AND DISCUSSION

Nematodes from the genus *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus* spp., *Rotylenchulus* spp., *Pratylenchus* spp., *Tylenchus* spp. and *Criconemoides* spp. were identified in soil samples. Of these plant-parasitic nematodes, *Meloidogyne* spp. was the most frequently genus, being observed in 82 % of the samples, followed by *Helicotylenchus* – 61 %, *Rotylenchulus* – 47 %, *Tylenchus* – 37 %, *Pratylenchus* – 34 % and *Criconemoides* 7.4 %.

The high frequency of the genus *Meloidogyne* may be due to the high level of polyphagia, which facilitates its survival for successive cycles in planting areas. Our data are in accordance with Gonçalves (2014) and Oliveira (2016) who also observed high frequency of *Meloidogyne* spp. in vegetable crops in the states of São Paulo and Goiás, Brazil, respectively. Other genera such as *Helicotylenchus*, *Rotylenchulus*, *Pratylenchus* were also found by these authors.

In this study gall index showed high variation among the evaluated crops. Eggplant, squash, parsley, scarlet eggplant, cucumber, pepper and tomato showed an average rating index of more than 3, indicative of susceptibility (Figure 1). Only cabbage, broccoli, cauliflower, snap bean, gherkin, okra and tomato showed symptomatic plants. However, in all cases, the number of symptomatic plants was higher, except for tomato where the number of plants with or without symptoms was equivalent (Figure 2). The severity of symptoms may be related to the spreading behavior of *Meloidogyne* spp. due to the proximity between plantations (Figure 3A). In addition, the uniformity and distribution of the nematode in the cultivation area associated with crop succession/rotation and management with biological control, partly explains the low gall index for some vegetables and the form of dissemination in the green belt region of the Planalto Rural. On the other hand, regarding the plant-parasitic nematodes observed in soil samples, *Meloidogyne* spp. showed the highest frequency (46 %) (Figure 3B), which can be attributed to the use of resistant cultivars by the growers. In fact, in tomato cultivation, producers have used the Woodstock and Volttomato rootstocks, which are resistant to *M. incognita* (races 1, 2, 3, 4) and *M. javanica*, which may explain a reduction in infectivity and expression of symptoms in tomato in just a few areas. However, the main cultivars used by producers for growing squash (cvs. Adele, Alícia and Corona), eggplant (cv. Nápoli), cucumber (cvs. Racer and Diplomata), pepper (cvs. Dahra, Nataly and Magali), tomato (cvs. Protheus and Compack), parsley (cv. Chácara), lettuce (cv. Vera), cauliflower (cvs. Juliana, Sharon,

Paloma and Sarah), broccoli (cvs. Hanapon and Logan) and coriander (cvs. Santo, Verdãoand Aztec) are all susceptible to *Meloidogyne* spp., which partly explains the high percentage of infection severity expressed by gall index.

Figure 1: Mean index number of *Meloidogyne* spp. galls in vegetable crops sampled in the areas assessed. *Number of samples used to obtain the average.

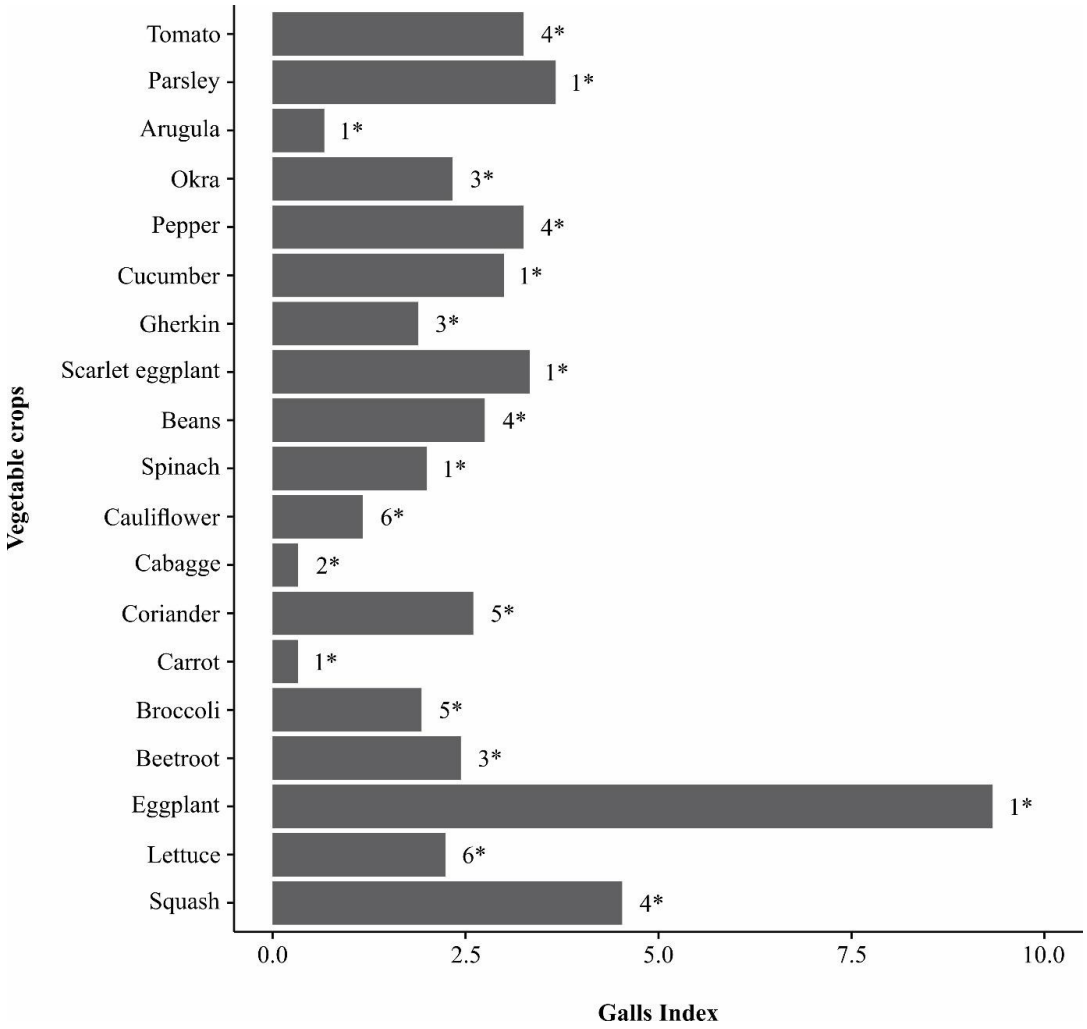


Figure 2: Average number of vegetables sampled in 15 fields regarding the presence of Meloidogyne spp. symptom sin the root system.

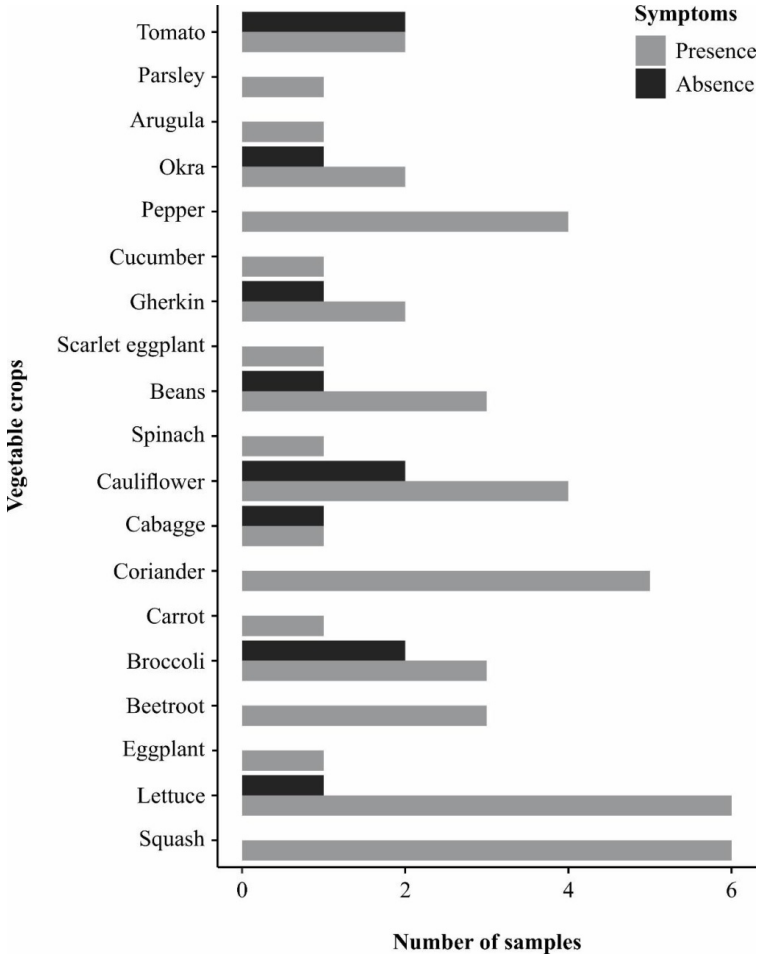
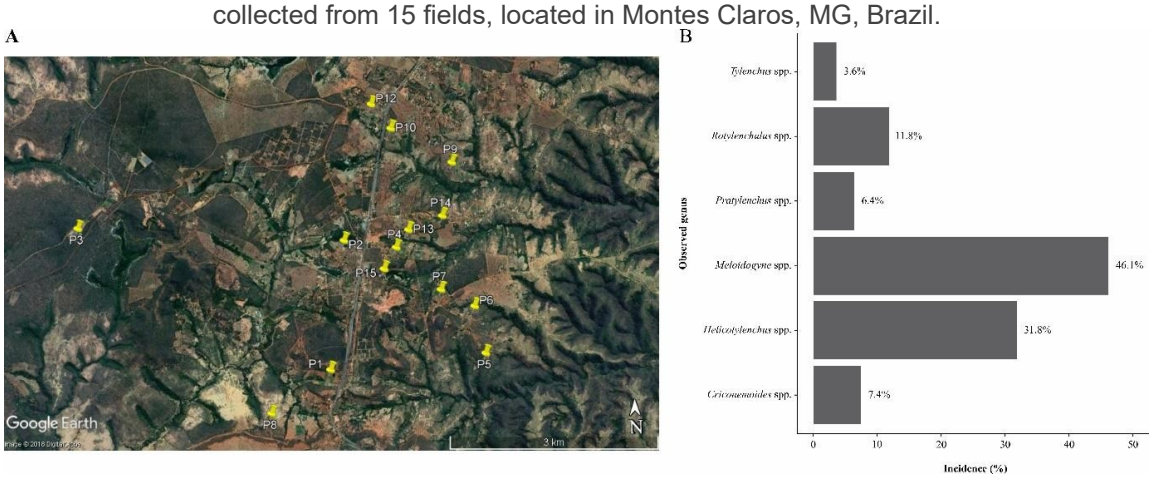


Figure 3. Aerial view of the location (A) and frequency of nematodes (B) observed in soil samples collected from 15 fields, located in Montes Claros, MG, Brazil.



The soil attributes, such as pH, soil organic matter, contents of phosphorus and calcium ranged from 6.0-7.0, 2.24-5.58 dag Kg^{-1} e 11.87-1080 mg dm^{-3} e 2.94-5.35 cmolc dm^{-3}, respectively and soil texture ranged from sandy to sandy loam (Table 1).

According to Van Gundy (1985) *Meloidogyne* spp. survive, hatch and reproduce over a wide pH range, 4.0-8.0, and also these nematodes can occur on a wide range of soil types. Soil organic matter also can affect nematode population, however, nematode control efficacy is not always satisfactory (OKA, 2010). Regarding phosphorus its effect to control nematodes can vary according to the source used (FERRAZ *et al.*, 2010). According to Zambolim and Ventura (2012) the application of superphosphates may enhance protein synthesis and the cellular activity in plant tissues, improving plant resistance to nematodes. On the other hand, calcium plays a role as an essential element for the plant growth and developmentand also in cross-linking acidic pectin residues in the cell wall; low Ca^{+2} increases the permeabilityin the plasma membrane (HEPLER, 2005).

Table 1. Chemical and Physical soil characteristics from sampled areas infested with Meloidogyne spp. in 15 fields, located in Montes Claros, MG, Brazil.

Fields	*Meloidogyne* spp. populations (100 $cm^3$of soil)	Soil texture	pH	SOM (dag kg^{-1})	Phosphorus(mg dm^{-3})	Calcium ($cmol_c dm^{-3}$)
1	706	SL	7	3.23	1080	4.2
2	1478	S	6.4	2.78	1080	2.94
3	129	SL	6.2	4.41	490	4
4	520	S	7	3.39	460	3.5
5	0	SL	7	4.06	510	5.35
6	41	S	6	5.58	11.87	4.8
7	234	SL	6.9	4.79	1080	5
8	526	S	7	4.06	540	3.8
9	85	SL	6.7	2.50	860	3
10	408	SL	6.5	3.71	840	4.26
11	140	SL	6.6	3.23	1080	4.1
12	1764	SL	6.3	2.37	480	3
13	530	S	6.6	2.64	580	3
14	255	SL	6.8	3.39	460	3.43
15	33	S	6.8	2.24	1020	4

SOM = soil organic matter; SL = Sandy loam; S = Sandy.

Therefore, based on these soil characteristics it is not possible to explain the high *Meloidogyne* population densities in some of the sampled areas, once under field conditions it is difficult to separate the interacting effects of soil and environmental factors. In addition, the absence of crop rotation and the soil movement by farm equipment observed in the present study should have contribute to increase nematode population densities in the areas. Based on galls index, the vegetable crops eggplant, squash, parsley, scarlet eggplant, cucumber, pepper and tomato were the most affected by *Meloidogyne* spp.

REFERENCES

Alvares, C.A.; Stape, J.L.; Sentelhas, P.C.; Gonçalves, J.L.M.; Sparovek, G. Köppen's climate classification map for Brazil. Meteorologische Zeitschrift, v.22, p.711-728, 2013.

Bridge, J.; Page, S.L.J. Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a ratingchart. Tropical Pest Management, v.26, p.296–298, 1980.

EMATER. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. Agenda: culturas, fruticultura, olericultura e pequenos animais. 2017. Available at: http://www.emater.mg.gov.br/portal.do?flagweb=novosite_pagina_interna&id=18715#:~:text=Minas%20Gerais%20%C3%A9%20o%20segundo,tomate%20para%20mesa%20e%20inhame.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solos. 2ª ed.Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1997. 212p.

FAOSTAT. Food and agriculture organization of the United Nation. 2020. Available at: http://ww w.fao.org/faostat/en/#data/QC.

Ferraz, S.F., Freitas, L.G.; Lopes, E.A.; Dias-Arieira, C.R. Manejo sustentável de fitonematoides. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2010. 306p.

Ferraz, L.C.C.B. Chave ilustrada de identificação dos principais gêneros de fitonematoides no Brasilbaseada em caracteres das fêmeas. In: Oliveira, C.M.G.; Santos, M.A.; Castro, L.H.S. (Org.). Diagnose de fitonematoides. Campinas, SP: Millennium Editora, 2016. p.237-253.

Gonçalves, L.A. Levantamento e manejo de nematoides fitoparasitas em áreas cultivadas com olerícolas na região centro-oeste do estado de São Paulo. Tese (doutorado) - Universidade EstadualPaulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, SP, 2014. 58p. Available at: http://hdl.handle.net/11449/114007.

Hepler, P.K. Calcium: a central regulator of plant growth and development. The Plant Cell, v.17, p.2142-2155, 2005.

Jenkins, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter, v.48, p.692, 1964.

Mai, W.F.; Mullin, P.G. Plant-parasitic nematodes: A pictorial key to genera. 5th Edition. Ithaca: Cornell University, 1996. 277p.

Oka, Y. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments - a review. Applied Soil Ecology, v.44, p.101-115, 2010.

Oliveira, J.O. Levantamento de fitonematoides e caracterização bioquímica de populações de Meloidogyne spp. em áreas cultivadas com hortaliças na região sul do estado de Goiás. Dissertação (mestrado) - Instituto Federal Goiano, Campus Morrinhos, Morrinhos, GO, 2016. 47p. Available at: https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/95.

Pinheiro, J.B. Nematoides em hortaliças. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 194p.

Van Gundy, S.D. Ecology of Meloidogyne spp. – emphasis on environmental factors affecting survival and pathogenicity. In: Sasser, J.N.; Carter, C.C. (Eds). An advanced treatise on Meloidogyne, v.1. Biology and control. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. p.177-182.

Zambolim, L.; Ventura, J.A. Mecanismos de ação do fósforo na severidade de doenças de plantas. In: Zambolim, L., Ventura, J.A.; Janão Júnior, L.A. (Eds.). Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas. Viçosa, MG: Suprema Gráfica e Editora, 2012. p. 82-101.

CAPÍTULO 03

CONTAMINAÇÃO POR FORMAS INFECTANTES DE ENTEROPARASITAS EM AMOSTRAS DE ALFACES (*LACTUCA SATIVA*) COMERCIALIZADAS NO ESPAÇO URBANO DE UM MUNICÍPIO DO TRIÂNGULO MINEIRO

Diego Rodrigues Naves Barbosa Lacerda
Acadêmico de Medicina
Universidade de Uberaba – UNIUBE, Uberaba, MG, Brasil
Endereço: Av. Nenê Sabino, 1801, Bairro Universitário - Uberaba/MG CEP. 38.055-500
E-mail: diego_lacerda93@hotmail.com

Adriano Silvério da Paixão Filho
Acadêmico de Medicina
Universidade de Uberaba – UNIUBE, Uberaba, MG, Brasil
Endereço: Av. Nenê Sabino, 1801, Bairro Universitário - Uberaba/MG CEP. 38.055-500
E-mail: aspaixaofilho@gmail.com

Aldo Matos
Mestre em Imunologia e Parasitologia Aplicadas pela Universidade Federal de Uberlândia Professor na Universidade de Uberaba - UNIUBE
Endereço: Av. Nenê Sabino, 1801, Bairro Universitário - Uberaba/MG CEP. 38.055-500
E-mail: aldo.matos@uniube.br

RESUMO: O Brasil, como um país tropical em desenvolvimento, possui clima e situação socioeconômica favoráveis à ocorrência de doenças parasitárias. Nesse contexto, as hortaliças consumidas cruas têm especial importância para a saúde pública, porque podem conter cistos de protozoários, ovos e larvasde helmintos. Essas formas infectantes podem evoluir para enteroparasitoses, com risco de provocar quadros de diarreia, perda peso e colaborar para a subnutrição nas diferentes faixas etárias, e também levar ao atraso no desenvolvimento ponderal em crianças. Avaliou-se a frequência da contaminação por formas infectantes de enteroparasitas em amostras de alfaces *(Lactuca sativa*), comercializadas em hortas localizadas no espaço urbano de Uberaba-MG. No período de setembro de 2018 a Julho de 2020, analisaram-se 155 amostras de pés de alface através do método de sedimentação espontânea, utilizando Glicina 1M e Tween 80 a 0,1 % como líquidos extratores. Evidenciaram-se 131 (84,52 %) amostras contaminadas por alguma forma de protozoário ou verme intestinal. Os resultados corroboram com dados encontrados por outros autores no que tange a contaminação das amostras por matéria fecal humana ou de animais. Fica evidente a necessidade de controle sanitário sobre as técnicas de produção e de informar os consumidores sobre a correta higienização dos vegetais consumidos crus.

PALAVRAS-CHAVE: Verduras, Contaminação de Alimentos, Doenças parasitárias, Epidemiologia.

ABSTRACT: Brazil, as a developing tropical country, has a favorable climate and socioeconomic situation for the occurrence of parasitic diseases. In this context, vegetables eaten raw are of particular importance for public health, as they may contain protozoan cysts, eggs and helminth larvae. These infectious forms can evolve into enteroparasitosis, with the risk of causing diarrhea, weight loss and contributing to malnutrition in different age groups, and also lead to delayed weight development in

children. The frequency of contamination by infectious forms of enteroparasites in samples of lettuce (Lactuca sativa), marketed in vegetable gardens located in the urban space of Uberaba-MG,was evaluated. In the period from September 2018 to July 2020, 155 samples of lettuce feet were analyzed using the spontaneous sedimentation method, using 1M Glycine and 0.1 % Tween 80 as extracting liquids. 131 (84.52 %) samples were found to be contaminated by some form of protozoanor intestinal worm. The results corroborate data found by other authors regarding the contaminationof samples by human or animal fecal matter. There is a clear need for sanitary control over production techniques and informing consumers about the correct hygiene of vegetables eaten raw.

KEYWORDS: Vegetables; Food Contamination; Parasitic Diseases, Epidemiology.

1. INTRODUÇÃO

As parasitoses intestinais, quando em alta prevalência, configuram um importante problema de saúde pública, colaborando para a subnutrição e o atraso no desenvolvimento ponderal de crianças. Além disso, algumas espécies de parasitas intestinais podem causar diarreia e, em situações específicas, quadros graves que podem levar a morte (SILVA *et cols*., 1995).

A infecção por enteroparasitos é evidenciada em países em desenvolvimento, os quais possuem níveis de saneamento básico reduzidos em relação aos países desenvolvidos (MESQUITA *et cols.,* 1999) e a cadeia de transmissão envolve a ingestão de hortaliças cruas, manipuladas inadequadamente (SILVA *et cols.,* 1995).

Trabalhos de diversos autores, em diferentes países, demonstram um elevado índice de contaminação por formas infectantes de enteroparasitos em hortaliças consumidas cruas.

Gregório *et al.* (2012) relataram altos índices de contaminação na alface normal (72,7 %) e no agrião (33,6 %), vendidas na zona leste de São Paulo. Em um estudo realizado em Lavras-MG, com avaliação parasitológica de 120 amostras de alface (*Lactuca sativa*), todas tinham algum tipo de contaminação, independente da natureza do estabelecimento em que eram comercializadas (sacolões, supermercado e feiras-livres). Em ordem decrescente, as formas parasitárias ou contaminantes mais frequentes foram: larvas de nematódeos (47,5 %), ovos de ácaros (41,7 %); ácaros (40,8 %); insetos (34,2 %); ovos de outros nematódeos (30,8 %); oocistos não esporulados (23,3 %); larvas de estrongilídeo (21,7 %); cistos de *Entamoeba sp* (5%) e ovos de *Toxocara sp* (1,7 %). Este último indica contaminação por fezes de cães e/ou gatos (GUIMARAES *et al.*, 2003). Mesquita *et al*. (1999) avaliaram a contaminação por enteroparasitas em hortaliças consumidas cruas comercializadas nas cidades de Niterói e Rio de Janeiro. Foram estudadas 128 amostras de hortaliças, sendo elas alface (*Lactuca sativa*) e agrião (*Nasturtium officinale*), provenientes do comércio e de restaurantes. Do total de amostras, 96,1 % apresentavam algum tipode contaminação (ácaros, ovos de ácaros, insetos, larvas de nematóides e protozoários ciliados), sendo que 6,2 % das amostras apresentaram presença de estruturas parasitárias com morfologia semelhante às de espécies parasitas de animais.

Oliveira e Germano (1992) avaliaram hortaliças cruas comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP. As hortaliças examinadas, constituídas de 50

amostras de cada variedade, foram de: alface *(Lactuca sativa),* variedades lisa e crespa, escarola *(Chichorium sp)* e agrião *(Nasturtium officinale).* Os índices de contaminação do estudo variaram de 32 % para a alfacelisa a 66 % para o agrião.

Outro estudo avaliou a contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nos supermercados da cidade do Rio de Janeiro. Das 220 amostras examinadas. 47 (21,4 %) encontravam-se contaminadas com ovos de helmintos e cistos de protozoários (SILVA *et al*., 1995). Atendo ao cenário internacional, em uma meta-análise sobre contaminação de vegetais por formas infectantes de enteroparasitas no Irã, a qual compreendeu publicações do período de 1999 a 2010, a prevalência variou de 2 % a 77 % (ABDI *et al*., 2014).

Eraky *et al*. (2014) analisaram vegetais comercializados no Egito. Do total de amostras analisadas, 29,6 % estavam contaminados, sendo que a alface apresentou maior frequência de contaminação, cujo parasita foi a *Giarida* sp. Essa prevalência foi significativamente maior no verão, sugerindo assim um comportamento sazonal. Achados semelhantes ao descrito acima,também foi relatado por Calvo *et al*. (2004) em um estudo feito na Costa Rica, onde embora todas as hortaliças apresentassem uma alta prevalência de coliformes, as hortaliças alface e coentro apresentaram uma contaminação significativamente maior na estação chuvosa.

Nesse mesmo contexto, na Arábia Saudita, Ali *et al*. (2006), evidenciaram alta frequência de contaminação. Dos 5 tipos de vegetais examinados, o maior número de parasitas foi encontrado em cebolinha (28 %), e a menor em alho poró (13 %). A prevalência de parasitas em outros legumes foi de 25 % em rabanete e 17 % em cada tipo de alface e agrião. *Ancylostoma duodenale* e *Entameba coli* foram os contaminantes mais comuns detectados (19,04 %) seguido por *Ascaris lumbricoides* (15,8 %) e *Blastocystis hominis* (12,6 %).

Uma pesquisa realizada no Irã evidenciou a diferença estatisticamente significativa entre amostras lavadas e não lavadas, em que os ovos de helmintos foram encontrados em 21 (9,63 %), do total de 218 amostras dos vegetais não lavados e em nenhuma das amostras lavadas. Os ovos recuperados das amostras não lavadas foram identificados como os de *Hymenoleis nana*, *Taenia spp*., *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichostrongylus spp*. e *Dicrocoelium dendriticum*. Cistos de protozoários foram encontrados em 13 (5,96 %) do total de 218 amostras não lavadas e em nenhuma das amostras lavadas. Os cistos foram identificados como os de *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica/ E. dispar*, e *Giardia lamblia*. Não foi

encontrada contaminação com larvasrabditóides em nenhuma das amostras lavadas de vegetais examinados no estudo, mas larvas rabditóides foram detectadas em 48 (22,01 %) das 218 amostras não lavadas. (SHAHNAZI, M., & JAFARI-SABET, M., 2010).

A contaminação das hortaliças pode ocorrer a partir do ambiente, como foi relatado por Andreis, Shuh e Tavares (2008), que demostraram a contaminação do solo em uma horta comunitária em Novo Hamburgo (RS). Também, Guerreiro Barrantes et cols. (2011) detectaram contaminação da água de irrigação em Lima (PER) e Amorós et cols. (2010), em Valência (ES) onde as fontes de irrigação estavam contaminadas por oocistos de *Cryptosporidium sp* e cistos de *Giardia sp*. Existem ainda outras formas de contaminação que incluem, além da contaminação do solo por uso de adubo orgânico com dejetos fecais, o contato das hortaliças com animais como aves,moscas e roedores, bem com a forma inadequada com que as hortaliças são manuseadas e transportadas (ROBERTSON; GJERDE; 2001).

Coelho *et al.* (2001) avaliaram a presença de formas transmissíveis de enteroparasitas em água e em hortaliças consumidas cruas. A água apresentou índice de 0,7 % de contaminação (*Hymenolepis diminuta, Strongyloides stercoralis e ancilostomídeos*), já a hortaliça *in natura* apresentou 3,9 % (*Strongyloides stercoralis,* Ancilostomídeos*, Ascaris lumbricoides e Giardialamblia*) e a hortaliça lavada 1,3 % (*Strongyloides stercoralis, Ascaris lumbricoides e Giardia lamblia*).

Outro estudo conduzido por Guilherme *et al.* (1999) investigou as condições sanitárias de hortaliças consumidas cruas, que eram vendidas na Feira do Produtor de Maringá no estado do Paraná. Nesse estudo observou-se que 16,6 % das 144 amostras de cinco diferentes hortaliças estavam contaminadas por enteroparasitas e os autores concluíram que a contaminação de hortaliçasse deu na fase de produção, sendo necessária uma campanha de esclarecimento aos produtores.

Nas áreas urbanas de Ituiutaba (MG), Colombo et cols. (2018), evidenciaram que as hortaliças disponíveis ao consumidor nos sacolões, nas feiras livres e nas hortas do município apresentaram condições de acondicionamento e manipulação inadequados. Em um estudo realizado em Santa Catarina, por Soares e Cantos (2005), observou-se que as condições de cultivo e manipulação das hortaliças fornecidas aos “sacolões”, durante a produção, coleta, transporte e armazenamento, foram inferiores às daquelas comercializadas nos supermercados, apresentando uma alta frequência de parasitas intestinais na maioria das amostras analisadas.

A rotina da vida moderna tem levado a necessidade de comprar alimentos prontos, devido àdificuldade de homens e mulheres trabalhadoras deslocarem-se até sua residência para produzir e/ouconsumir suas refeições em domicílio. A produção de alimentação coletiva seja em pequena ou grande escala passa então a ser uma necessidade para a população (ALVES *et al*., 2012). Entretanto, a contaminação de hortaliças por formas infectantes de parasitos de diferentes agentes infecciosos de transmissão fecal-oral assume uma dimensão maior na alimentação coletiva, uma vez que os vegetais contaminados serão consumidos, certamente, por um número maior de pessoas (PANZA e SPONHOLZ, 2008).

Diante desse quadro, os enteroparasitos representam uma condicionante importante para o desenvolvimento de anemias carenciais e desnutrição proteico-calórica, além disso, são responsáveis também pelo atraso do desenvolvimento ponderal, e em alguns casos há parasitos capazes de provocar diarreias, podendo culminar na morte do hospedeiro (WHO, 2014; LIMA e COTRIN, 2004).

Ponderando que eventos na cadeia de produção e distribuição das hortaliças podem interferir na contaminação do produto que chega ao consumidor final, propôs-se em avaliar a contaminação desses vegetais nos pontos de comercialização de massa que são as feiras livres e diretamente nas hortas situadas no perímetro urbano de Uberaba-MG.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

Foram analisados 155 pés de alface (*Lactuca sativa*). Destas, 61 foram obtidas de 7 produtores com hortas situadas na área urbano de Uberaba (MG) que vendiam diretamente ao consumidor e compuseram o Grupo 1 (G1). Já o Grupo 2 (G2) foi composto por 94 amostras obtidas na maior feira livre da cidade, oriundas de 11 produtores com hortas na zona rural do mesmo município. As amostras foram selecionadas pelos próprios feirantes (G1) e pelos produtores nas hortas da área urbana (G2), em diferentes estações do ano e guardadas na embalagem original, a 4ºC, até o momento de serem processadas.

2.2 ANÁLISE DAS HORTALIÇAS

Aproximadamente 30g de folhas rasuradas de alface foram colocadas em saco plástico de primeiro uso, ao qual foram adicionados 300mL de Glicina 1M e agitadas vigorosamente por 3 minutos. Após, o líquido de lavagem foi coado em peneira de

malha de 1mm, direto para um cálice de exame coprológico, deixando-se decantar por 24h. Terminada a sedimentação, o sobrenadante foi removido com pipeta, deixando um resíduo de 10mL que foi transferido para um tubo de centrifugação com capacidade para 15mL. O cálice foi lavado com 5mL de água destilada que também foi acrescido ao mesmo tubo que foi centrifugado a 1120g por 5 minutos a temperatura ambiente. Descartou-se o sobrenadante e o sedimento foi homogeneizado com pipeta Pasteur. Foram confeccionadas 3 lâminas com o sedimento, coradas pelo Lugol, que foram observadas ao microscópio ótico com aumento de 10x e 40x, para a identificação de formas evolutivas de enteroparasitas.

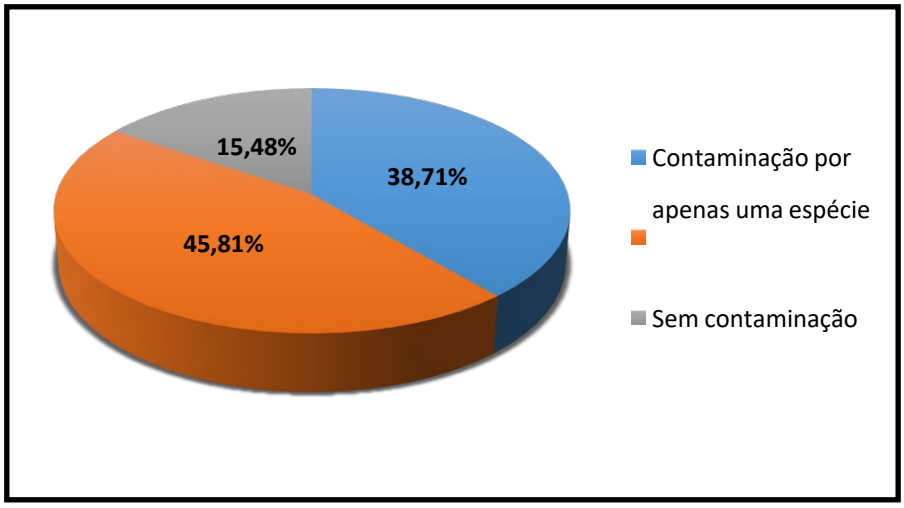
O mesmo procedimento foi realizado usando solução de Tween 80 a 0,1 % como líquido extrator

3. RESULTADOS

Dos 155 pés de alfaces (*Lactuca sativa*) analisados, 131 (84,52 %) estavam contaminados por alguma forma de protozoário ou verme intestinal, dentre essas amostras positivas, em 60 (38,71 %) havia contaminação por apenas uma espécie de verme ou protozoário, enquanto em 71 (45,81 %) mais de uma espécie foi encontrada. Em 24 amostras (15,48 %) não foram evidenciadas formas contaminantes.

A distribuição da frequência de contaminação nas alfaces está apresentada na Figura 1.

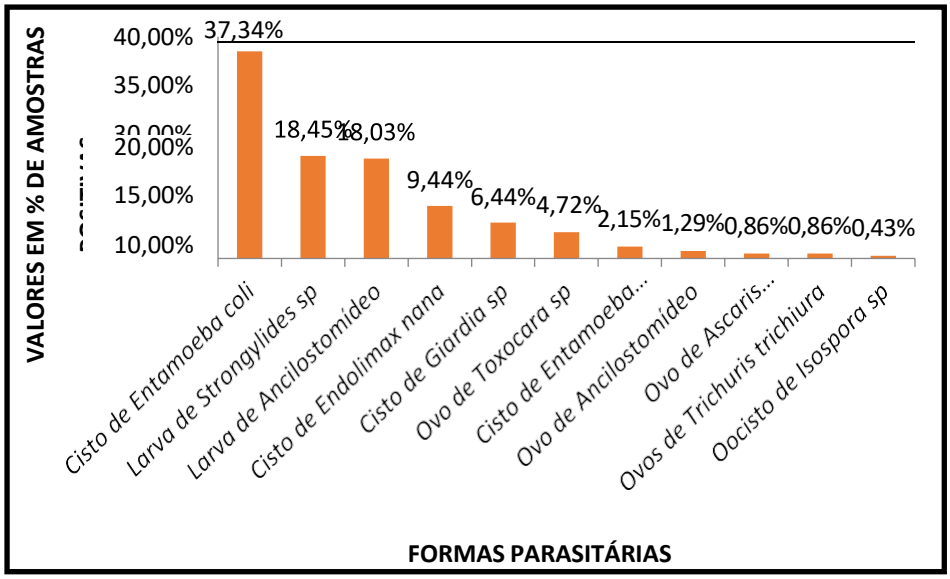
Figura 1: Frequência de contaminação por formas de vermes e protozários em amostras Lactuca sativa cultivadas em área rural e hortas urbanas. Uberaba, 2020.



Fonte: Os Autores.

Dentre os mais prevalentes protozoários ou vermes intestinais destacam-se os cistos de *Entamoeba coli* (37,34 %), seguido das larvas de *Strongyloides sp* (18,45 %), larvas de *Ancilostomídeos* (18,03 %), *Endolimax nana* (9,44 %), *Giardia sp* (6,44 %), *Toxocara sp* (4,72 %), *Entamoeba hartmanni* (2,15 %), ovo de *Ancilostomídeo* (1,29 %), ovo de *Ascaris lumbricoides* (0,86 %), *Trichuris trichiura* (0,86 %), e por fim *Isospora sp* apresentou (0,43 %) de prevalência. Como pode ser visto na Figura 2 e Tabela 1.

Figura 2: Frequência de formas de vermes e protozoários contaminantes nas amostras de alface positivas de rurais e urbanas. Uberaba-MG, 2020.

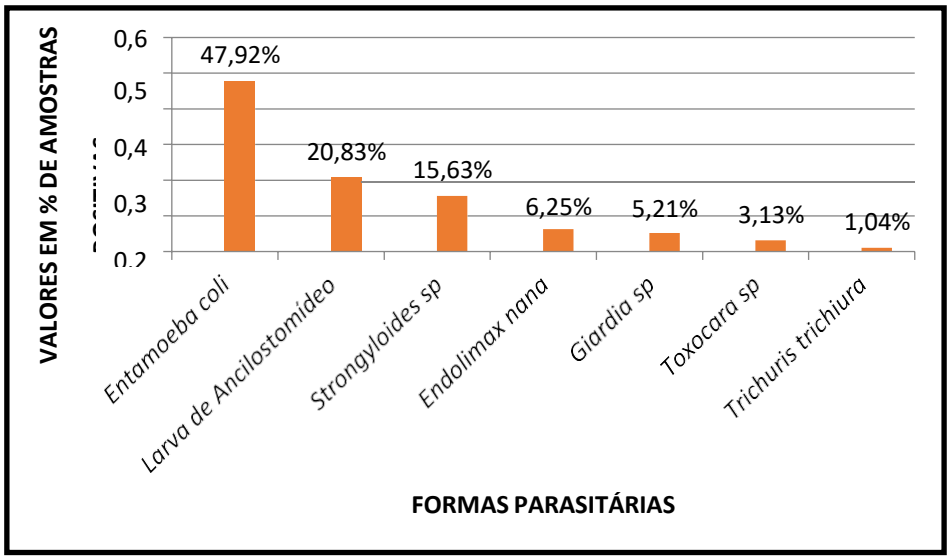


Fonte: Os Autores.

A prevalência de contaminação, as alfaces comercializadas em hortas comercias na área urbana (G2), apresentaram 86,88 % de contaminação, sendo que as comercializadas em feiras livres (G1) originárias da área rural apresentaram 82,97 % de contaminação. Não houve, portanto, diferença na frequência de contaminação nas alfaces obtidas dessas fontes.

Ademais, no grupo G2 houve uma prevalência de contaminação por *Entamoeba coli* (47,92 %) seguido das larvas de *Ancilostomídeos* (20,83 %), larvas de *Strongyloides sp* (15,63 %), *Endolimax nana* (6,25 %), *Giardia sp* (5,21 %), *Toxocara sp* (3,13 %) e *Trichuris trichiura* apresentaram (1,04 %) de prevalência., como pode ser visto no gráfico abaixo (Figura 3).

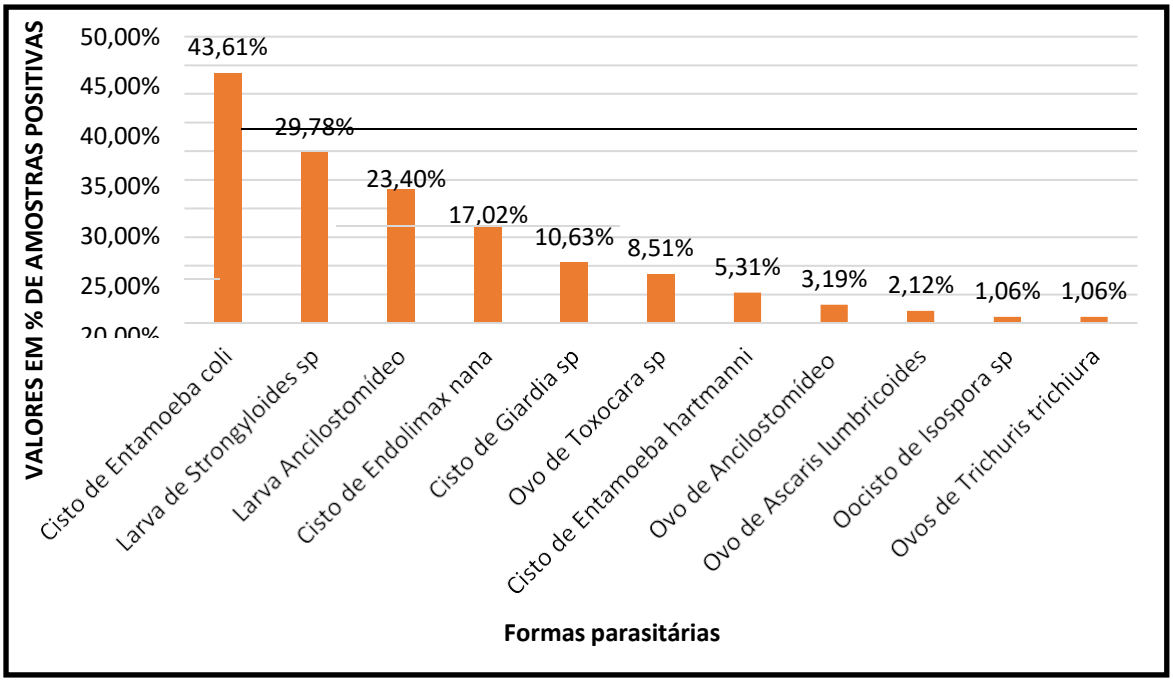
Figura 3 – Gráfico de colunas formas parasitárias por valores em % de amostras positivas, em ambiente urbano, no município de Uberaba-MG, 2020.



Fonte: Os Autores.

Já no G1, dentre os mais prevalentes protozoários ou vermes intestinais destacam-se os cistos de *Entamoeba coli* (43,61 %), seguido das larvas de *Strongyloides sp* (29,78 %), larvas de *Ancilostomídeos* (23,40 %), *Endolimax nana* (17,02 %), *Giardia sp* (10,63 %), *Toxocara sp* (8,51 %), *Entamoeba hartmanni* (5,31%), ovo de *Ancilostomídeo* (3,19 %), ovo de *Ascaris lumbricoides* (2,12 %), e por fim *Isospora sp* e *Trichuris trichiura* apresentaram (1,06 %) de prevalência. Como pode ser visto na Figura 4.

Figura 4 – Frequência das formas de vermes e protozoários encontradas nas amostras positivas de Lactuca sativa cultivadas em área rural no município de Uberaba-MG, 2020.

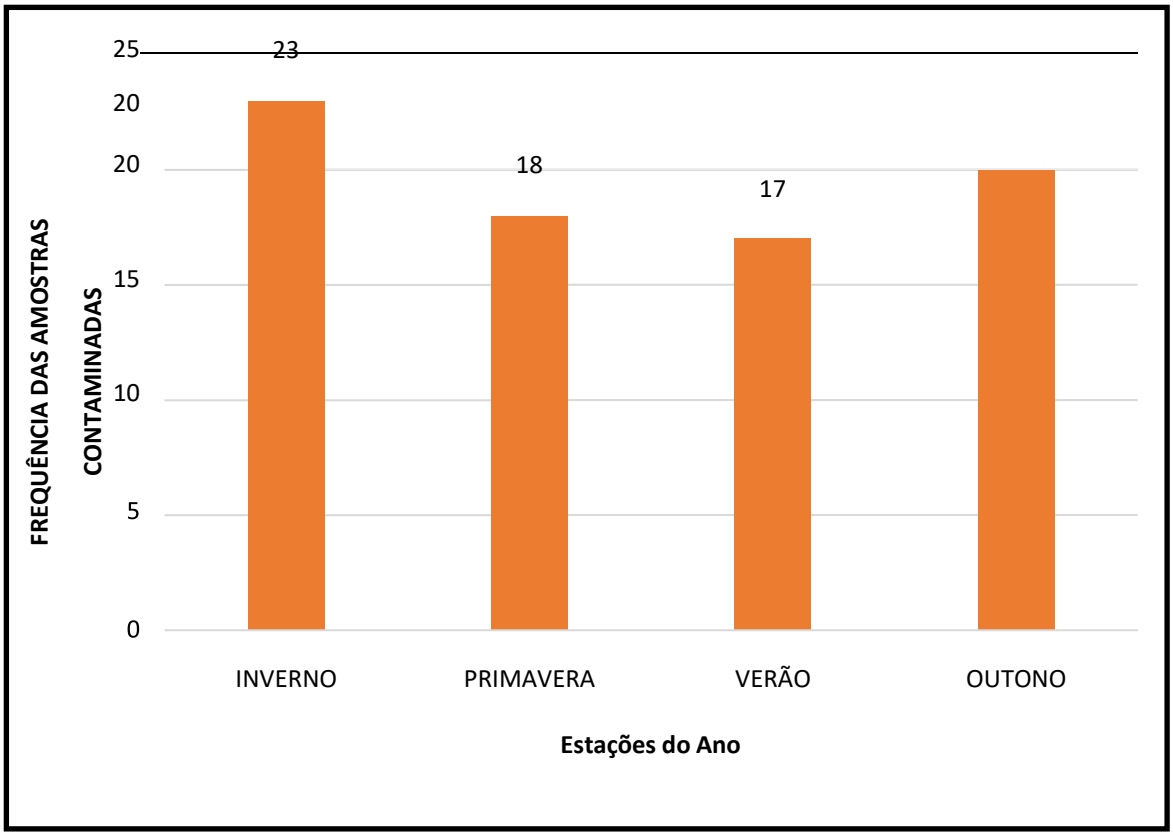


Fonte: Os Autores.

A policontaminação esteve presente em ambos os estudos, sendo no G1 em 48,93 % e no G240,98 %.

Acerca da frequência de contaminação das amostras positivas de acordo com as estações do ano pode-se evidenciar que no ambiente rural durante o inverno foram 23 amostras positivas, primavera 18, verão 17 e outono 20 amostras positivadas. Como pode ser visto na Figura 5.

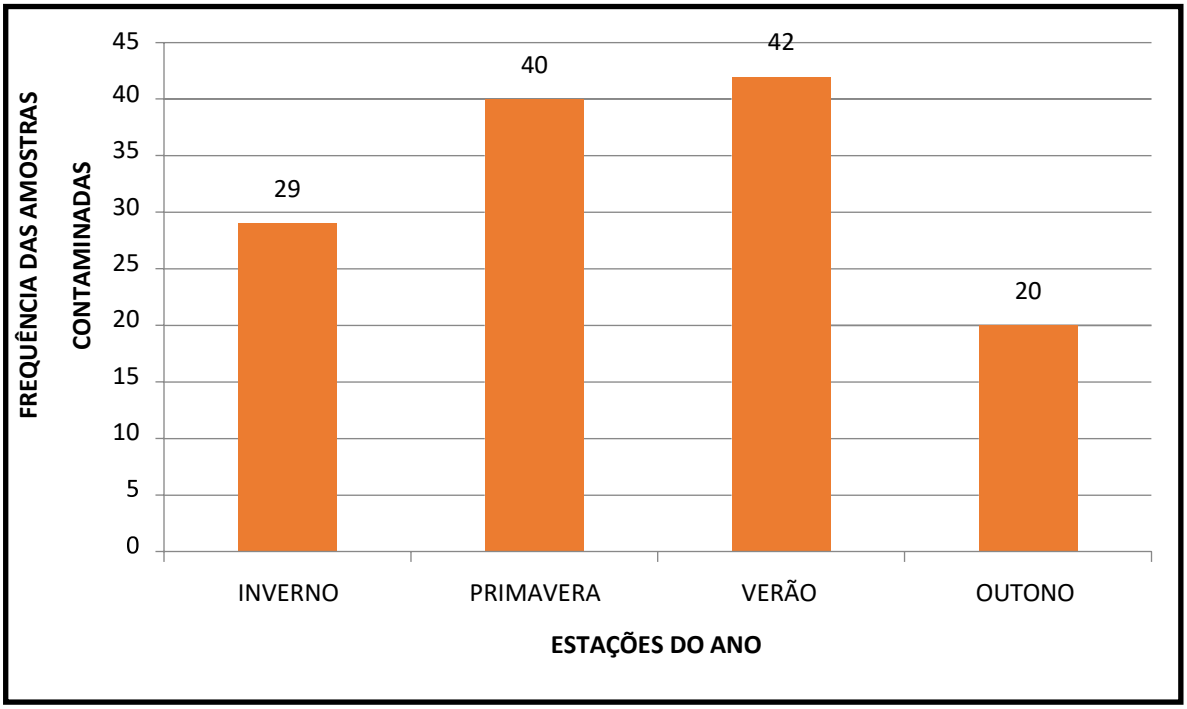
Figura 5 – Gráfico de colunas sazonalidade da contaminação parasitária em alfaces Lactuta Sativa - área rural. Uberaba-MG, 2020.



Fonte: Os Autores.

Já avaliando a sazonalidade do total de amostras, pode-se evidenciar que durante o inverno foram 29 amostras positivas, primavera 40, verão 42 e outono 20 amostras positivadas. Como podeser visto na Figura 6.

Figura 6: Variação sazonal da contaminação por formas de vermes e protozoários em alfaces Lactuta Sativa - total de amostras. Uberaba-MG, 2020.



Fonte: Os Autores.

4. DISCUSSÃO

Os altos índices de contaminação apresentados por este estudo corrobora para a hipótese de uma elevada utilização de técnicas inadequadas de adubação, irrigação da plantação com fonte contaminada ou ainda o armazenamento, transporte e manipulação das hortaliças sem métodos sanitários básicos, também explicitada nos trabalhos de Yusof *et al*. (2017), Guerrero Barrantes *et al*. (2011), Robertson e Gjerde (2001), Silva *et al*. (2005) e Jung *et al*. (2014).

Em estudos semelhantes realizado por Silva e Gontijo (2012), Alves, Cunha Neto e Rossignoli (2013), Mesquita *et al*. (1999) foi evidenciado um elevado número de contaminação em alfaces, sendo assim concordante com o presente trabalho. Nesses estudos, do total de amostras, 60 % estavam contaminadas (SILVA; GONTIJO, 2012), 63 % estavam contaminadas (ALVES; CUNHA NETO E ROSSIGNOLI 2013) e 96,1 % estavam contaminadas (MESQUITA *et al*., 1999) respectivamente.

Nesse contexto, a alta prevalência de contaminação está relacionada com o fato da hortaliça apresentar múltiplas folhas, tendo assim uma superfície de contato grande, propiciando a fixação das formas parasitárias. Ademais, o contato dessa hortaliça com o solo por um período maior de tempo, devido à forma de cultivo,

propicia uma maior chance de contaminação (BEKELE *et al*., 2017).

Com os dados supracitados acerca do presente trabalho é evidente a correlação com a literatura, a qual confirma que a presença de parasitas intestinais são um grave problema de saúde pública no Brasil, como descreve Neres *et al*. (2011), Gregório *et al*. (2012) e Vieira *et al*. (2013).

Diferentemente do observado nos estudos de Guimarães et al.(2003); Colombo *et al.* (2018) e Neres *et al.* (2011), este não apresentou 100 % de contaminação dos pés de alface analisados, podendo ser uma variante da localidade ou ainda a dificuldade de distinção e visualização das formasdos enteroparasitas à microscopia de luz.

Neste estudo, encontrou-se maior prevalência de amostras policontaminadas que na investigação de Vollkopf *et al*. (2006), que entre 54 amostras positivas encontram apenas 15 (27,7 %) contaminadas por mais de uma espécie.

A policontaminação indica que há uma contaminação importante por materiais fecaishumanos. A presença de protozoários comensais, como a E. coli, ainda que isoladamente também denotam esse tipo de contaminação (COLOMBO *et cols*., 2018). Ademais, em estudo realizado em São Mateus (ES) foi relatado a presença de larvas de *Strongyloides spp* (4 %) e ovos de *Ascaris spp*. (9 %), *Ancylostoma spp* (4 %), *Trichuris spp* (5 %) e *Taenia spp* (4 %) também como indícios de contaminações fecais de origem humana e/ou animal (BELINELO *et cols*., 2009).

Em adição, nos estudos de Mohamed *et al*. 2016, Guimarães *et al*. (2003) e Belinelo *et al*. (2009), Dubna *et al*. (2007) foi encontrado estruturas parasitárias com morfologia semelhante à de espécies parasitas de animais, também visto no presente estudo no que diz respeito à presença de ovos de *Toxocara sp.* (3,13 %), o que sugere e reafirma fortemente a presença de contaminação porfezes e cães e/ou gatos. Assim, é indicado que estes animais sejam vermifugados de maneira periódica com o objetivo de diminuir a possível contaminação do solo (GAWOR; BORECKA, 2017).

Existe discordância na literatura sobre quais enteroparasitas são os mais frequentes, ratificando que diferentes localidades apresentam diferentes distribuições epidemiológicas. Diferença essa exemplificada pela análise parasitológica feita nas alfaces e almeirões, por Nomura *et al.* (2015) em Londrina, na qual houve predominância de cistos de *Endolimax nana* em 100 % das amostras, seguidos de 87,5 % com larvas de *Ancilostomídeos*, 87,5 % com cistos de *Balantidium coli*, 87,5 %

com *Entamoeba histolytica*, 75 % com larvas de *Strongyloides stercoralis* e 62,5 % de *Entamoeba coli* nas alfaces e 50 % nos almeirões. Com menor ocorrência, foram identifcados os ovos de *Ascaris spp*. em 25 % nas alfaces. Portanto, na pesquisa de Nomura ocorreu predomínio de E.*nanax*, larvas de *Ancilostomídeos*, *Balantidium coli* e *Entamoeba histolytica*.

A distribuição da contaminação pelos diferentes vermes e protozoários, mostrou maior diversidade de espécies contaminantes no G1 (zona rural) quando comparado à área urbana (G2). Isso provavelmente se deve, como foi explicitado na pesquisa de Soares *et al.* (2005), a que muitos agricultores que fornecem hortaliças para os "sacolões" utilizam o esterco de boi para adubar a terra e água de rio, provavelmente contaminada, para irrigar a plantação de hortaliças, e não realizavam a lavagem pós-coleta. O estudo realizado por esses autores apresentou frequências semelhantes a este, com a *Entamoeba spp*. liderando a prevalência (76 %). Ademais em contrapartida denotaram uma ocorrência importante de ovos de *Toxocara sp* nas amostras de rúculas (5,2 %). A presença dos ovos deste parasita nas hortaliças está diretamente ligada à presença de cães ou gatos parasitados, afirmam os mesmos autores.

A variedade de tipos de alface existentes para consumo no mercado reflete em diferentes padrões de contaminação. O estudo feito por Traviezo-Valles *et al.* (2004), exemplifica essa variação, uma vez que na alface romana houve uma maior diversidade de contaminação que na alface americana. Porém, ao analisarem a abundância, foi maior na alface americana. Os autores afirmam que essa certa contradição é explicada pelo fato de que, em seu estudo, a abundância ocorreu às custas de larvas filariformes e rabditoides de *S. stercoralis* e *ancilostomídeos*, os quais possuem maior mobilidade e que o geotropismo negativo das larvas também colabora para a frequência desses parasitas.

Interessante salientar que as amostras colhidas para o estudo não apresentavam qualquer tipode pré-higienização, obtendo como exposto acima uma contaminação total de aproximadamente (G2) 86,88 % e (G1) 82,97 %. Em contrapartida, de 30 amostras colhidas de um self-service na cidade de Niterói-RJ, 25 delas foram negativas por ambos os métodos parasitológicos (Faust et colse Lutz). Isso implica que um certo processamento das folhosas já reduzem a taxa de contaminação, mas ainda foi concluído pelas autoras que havia uma baixa qualidade higiênico-sanitária durante o preparo para o consumo das hortaliças nos restaurantes

self-service estudados (PAULA *et cols*., 2003).

Acerca desse processamento, no que diz respeito a higienização das folhosas, no estudo dirigido por Avcioglu *et cols*. (2011) na Turquia, analisou-se o efeito da lavagem dos vegetais, incluindo a Lactuta sativa, comparando vegetais higienizados com os não higienizados. O resultado foi que, de 199 amostras de vegetais não higienizados foram encontradas formas de enteroparasitas em 6 (3,0 %), não sendo encontrada contaminação em nenhuma das outras 199 amostras que foram lavadas. Esses dados confirmam que os procedimentos de lavagem antes do consumo de vegetais crus, independentemente do saneamento dos fornecedores, devem ser realizados para evitar a transmissão de helmintos. No entanto, a fonte de água para lavagem do vegetais é muito importante. O uso exclusivo da água da torneira na lavagem dos vegetais é ineficaz na remoção dos enteroparasitos (AL-BINALI, ALI M. *et cols*., 2006), mesmo porque a água não filtrada é fonte de infecção por parasitas intestinais.

A diferença entre a frequência e sazonalidade da prevalência de amostras positivas é justificada pela hipótese criada nesse estudo com o decorrer dele inter-relacionando com a climática local. Isto é, como descrito por (MEDEIROS *et cols*., 2019) a sazonalidade influencia principalmente na contaminação parasitária mista, que é detectada prioritariamente no período chuvoso, primavera e verão, sugerindo que os índices pluviométricos podem influenciar no aumento do número de espécies de parasitos que potencialmente podem afetar a população.

5. CONCLUSÕES

O presente estudo evidenciou uma elevada prevalência de contaminação em amostras de alface analisadas por enteroparasitas com potencial patogênico, excetuando *Entamoeba coli*. Destafeita, ficou evidenciado que há uma precariedade ou falta de higiene na cadeia produtora urbana.

Sendo assim, é fundamental adotar medidas profiláticas como a melhoria da qualidade da água que é usada para irrigação, lavagem adequada das hortaliças antes da distribuição e consumo, vermifugação de animais contactantes e investimento em saneamento básico.

Ademais, mostra-se de suma importância a promoção e prevenção em saúde com o objetivo de informar, orientar e educar a população a cerca da cadeia de produção, venda e consumo, no que tange a difusão de técnicas domésticas de

higienização correta dos vegetais consumidos crus, de modo a contribuir com a redução da contaminação de enteroparasitas.

REFERÊNCIAS

ABDI, J.; FARHADI, M.; AGHACE, S.; SAYEHMIRI, K. Parasitic Contamination of Raw Vegetables in Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Medical Sciences**. v. 14,n. 13, p. 137-142, 2014.

AL-BINALI, A. M.; BELLO, C. S.; SHEWY, K. E.; ABDULLA, S. E. The prevalence of parasitesin commonly used leafy vegetables in South Western Saudi Arabia. **Saudi medical journal**. v. 27 (5), pg. 613-616, 2006.

ALVES, A. S.; CUNHA NETO, A.; ROSSIGNOLI, P. A. Parasitos em alface-crespa (Lactuca sativa L.), de plantio convencional, comercializada em supermercados de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 2, p. 217-229, 2013.

AMORÓS I.; ALONSO, J. L.; CUESTA, G. Cryptosporidium oocysts and giardia cysts on salad products irrigated with contaminated water. **J Food Prot.** v. 73(6), pg. 1138-1140, 2010.

ANSELMO, D. B.; WERLE, C. H.; HOFFMANN, F. L. Occurrence of antibiotic-resistant Escherichia coli and Staphylococcus aureus and of Entamoeba coli and Ascaris lumbricoides parasites in the school snacks. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 74, p. 399-409, 2015.

AVCIOGLU, H.; SOYKAN, E.; TARAKCI, U. Control of Helminth Contamination of Raw Vegetables by Washing. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**. v. 11(2), pg. 189–191, 2011.

BARNABÉ, A. S.; FERRAZ, R. R. N; PINCINATO, E.; GOMES, R. C. F. Análisis comparativo de los métodos para la detección de parásitos en las hortalizas para el consumo humano. **Rev Cubana Med Trop**. v. 62, n. 1, p. 24-34, 2010.

BEHRMAN, R.E.; KLIEGMAN, R.M.; ARVIN, A.M. **Tratado de Pediatria**. 19 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Paginas 26-55, 2013.

BELINELO V. J.; GOUVÊIA M. I.; COELHO M. P.; ZAMPROGNO A. C.; FIANCO B. A.; OLIVEIRA L. G. A. Enteroparasitas em hortaliças comercializadas na cidade de São Mateus, ES, BRASIL. **Arq ciências saúde UNIPAR**. v. 13(1), pg. 33-36, 2009.

BEKELE, F. *et al.* Parasitic contamination of raw vegetables and fruits collected from selected localmarkets in Arba Minch town, Southern Ethiop. **Infectious Diseases of Porvety**, v. 6, p. 1-7, 2017.

CALVO, M.; CARAZO, M.; ARIAS, M. L.; CHAVES, C.; MONGE, R.; CHINCHILLA, M. Prevalence of Cyclospora sp., Cryptosporidium sp, microsporidia and fecal coliform determinationin fresh fruit and vegetables consumed in Costa Rica. **Archivos latino americanos de nutrición.** v.54, pg. 428432, 2005.

COELHO, Lina Maria De Petrini da Silva et al . Detecção de formas transmissíveis de enteroparasitas na água e nas hortaliças consumidas em comunidades escolares de Sorocaba, São Paulo, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba , v. 34, n. 5, p. 479-482, Oct. 2001.

COLOMBO, M.S; MOURA, R. G. F.; FERREIRA, G. L. S.; HERNANDÉZ, C. G.; OLIVEIRA, K. R. Enteroparasitos em amostras de Lactuca sativa em um município no estado de Minas Gerais. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR,** Umuarama. v. 21, n. 1, p. 33-36, 2018.

DE OLIVEIRA, C. A.; GERMANO, P. M. Presence of intestinal parasites in vegetables sold in themetropolitan region of São Paulo, SP, Brazil. I-Search of helminths. **Rev Saude Publica**. v. 26(4),pg. 283-289, 1992.

DUBNA S, LANGROVA I, JANKOVSKA I, VADLEJCH J, PEKAR S, NAPRAVNIK J, FECHTNER J. Contaminação do solo com Toxocara ovos em áreas urbanas (Praga) e rurais na República Tcheca. **Vet Parasitol**. 2007; 144: 81–86.

DUEDU, K. O.; YARNIE, E. A.; TETTEH-QUARCOO, P. B.; ATTAH, S. K.; DONKOR, E. S.; AYEH-KUMI, K. M. A comparative survey of the prevalence of human parasites found in fresh vegetables sold in supermarkets and openaired markets in Accra, Ghana. **BMC Research Notes**. v.7(836), 2014.

ERAKY, M. A.; RASHED, S. M.; NASR, M. E. S.; HAMSHARY, A. M. S. E.; GHANNAM, A. S. Parasitic Contamination of Commonly Consumed Fresh Leafy Vegetables in Benha, Egypt. **Journal of Parasitology Research**. v. 2014, 2014.

FERNANDES, ADRIANO ALVES et al. Produtividade, acúmulo de nitrato e estado nutricional decultivares de alface, em hidroponia, em função de fontes de nutrientes. **Hortic. Bras.**, Brasília , v.20, n. 2, p. 195-200, June 2002.
GAWOR, J.; BORECKA, A. Quantifying the risk of zoonotic geohelminth infections for rural household inhabitants in Central Poland. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 24, p. 44-48, 2017.

GREGÓRIO, D. S.; MORAES, G. F. A.; NASSIF, J. M. Estudo da contaminação por parasitas emhortaliças da região Leste de São Paulo, Brasil. **Sci Health**. v. 3, pg. 96-103, 2012.

GUERRERO BARRANTES, C.; GARAY BAMBAREN, A.; GUILLEN, A. Larvas de Strongyloides spp. en lechugas obtenidas en mercados de Lima. **Rev. perú. med. exp. salud publica**. v. 28, n. 1, p. 159-160, 2011.

GUILHERME, Ana Lucia Falavigna et al . Prevalência de enteroparasitas em horticultores e hortaliças da Feira do Produtor de Maringá, Paraná. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba , v.32, n. 4, p. 405-411, Aug. 1999.

GUIMARAES, A. M.; ALVES, E. G. L.; FIGUEIREDO, H. C. P.; DA COSTA, G. M.; RODRIGUES, L. S. Freqüência de enteroparasitas em amostras de alface (Lactuca sativa) comercializadas em Lavras, Minas Gerais. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**. v. 36, n. 5, p. 621-623, 2003.

JUNG, G. J. *et al*. Parasitos em alface Lactuca Sativa (Asterales: Asteraceae) cultivadas em pequenas propriedades rurais dos municípios de Capinzal, Vargem Bonita e Lacerdópolis, Santa Catarina, Brasil. **Unoesc & Ciência**, v. 5, p. 103-108, 2014.

LIMA, G. M.; COTRIN, G. S. Enteroparasitoses: prevalência nos alunos da Escola Estadual de Carneirinho – MG. **Rev. bras. anal. clin**, v.36, p. 231-232, 2004.

MARZOCHI, MCA. Estudo dos fatores envolvidos na disseminação dos enteroparasitas. II-Estudoda contaminação de verduras e solo de hortas na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Revistado Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. 19: 148- 156, 1997.

MATOSINHOS, F. C.; VALENZUELA, V. C.; SILVEIRA, J. A.; RABELO, E. M. Padronização de metodologia para detecção de ovos e larvas de helmintos em alface. **Dissertação ao Programa de pós-graduação em parasitologia do ICB UFMG**. 2012.

MEDEIROS, F. A., OLIVEIRA, T. R., & MÁLAGA, S. M. R. Food safety: seasonal influence on parasitic contamination of lettuce (Lactuca sativa L.) commercialized in street markets in Belém, Pará, Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**. 2019.

MESQUITA, V. C.L; SERRA, C. M. B.; BASTOS, O. M. P.; UCHOA, C. M. A. Contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nas cidades de Niterói e Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**. v. 32, n. 4, p. 363-366, 1999.

MOHAMED, M. A. *et al*. Parasitic contamination of fresh vegetables sold at central markets in Khartoum state, Sudan. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 15, p. 1-7, 2016.

NERES, A. C.; NASCIMENTO, A. H.; LEMOS, K. R. M.; RIBEIRO, E. L.; LEITÃO, V. O.; PACHECO, J. B. P.; DINIZ, D. DE O.; AVERSI-FERREIRA, R. A. E G. M. DE F.; AVERSI- FERREIRA, T. A. Enteroparasitos em amostras de alface (Lactuva sativa var. crispa), no municípiode Anápolis, Goiás, Brasil. **Bioscience Journal**. v.27, n.2, p.336-341, 2011.

NOMURA, P. R.; FERREIRA, A. R. M.; RAFAELLI, R. A.; AUGUSTO, J. G.; TATAKIHARA, V. L. H.; CUSTÓDIO, L. A.; MURAD V. A. Estudo da incidência de parasitas intestinais em verduras comercializadas em feira livre e supermercado de Londrina. **Ciências Biológicas e da Saúde**. v. 36, n. 1, supl, p. 209-214, 2015.

OLIVEIRA, Carlos Augusto Fernandes de; GERMANO, Pedro Manuel Leal. Estudo da ocorrênciade enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil:I - Pesquisa de helmintos. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 283-289, Aug. 1992.

OLIVEIRA, Carlos Augusto Fernandes de; GERMANO, Pedro Manuel Leal. Estudo da ocorrênciade enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil:I - Pesquisa de helmintos. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 283-289, Aug. 1992.

PAULA, P.; RODRIGUES, P. S. R.; TÓRTORA, J. C. O.; UCHÔA, C. M. A.; FARAGE, S. Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (Lactuca sativa) de restaurantes self- service, de Niterói, RJ. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**. v. 36, n. 4, p. 535-537, 2003.

ROBERTSON, L.J.; GJERDE, B. Ocurrence of parasites on fruits and vegetables in Norway. J. **Food Protection**, v.64, p.1793-1798, 2001.

TRAVIEZO-VALLES, L.; DÁVILA, J.; RODRÍGUEZ, R.; PERDOMO, O.; PÉREZ, J. Contaminación enteroparasitaria de lechugas expendidas en mercados del estado Lara. Venezuela. **Parasitol. latinoam**. v. 59, n. 3-4, p. 167170, 2004.

SHAHNAZI, M.; JAFARI-SABET, M. Prevalence of Parasitic Contamination of Raw Vegetables in Villages of Qazvin Province, Iran. **Foodborne Pathogens and Disease**. v.7(9), pg. 1025–1030, 2010.

SILVA, Joaquim Pereira da *et al*. Estudo da contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nos supermercados da cidade do Rio de Janeiro. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba , v. 28, n. 3, p. 237-241, Sept. 1995.

SILVA, M. G.; GONTIJO, E. E. L. Avaliação parasitológica de alfaces (Lactuca sativa)

comercializadas em supermercados e feiras livres do município de Gurupi, Tocantins. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v. 5, n. 4, out. 2012.

SILVA, C. G. M.; ANDRADE, S. A. C.; STAMFORD, T. L. M. Occurrence of Cryptosporidium spp. and others parasites in vegetables consumed in natura, Recife, Brazil. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 10, p. 63-69, 2005.

SIMÕES, M.; PISANI, B.; MARQUES, E.G.L.; PRANDI, M.A.G.; MARTINI, M.H.; CHIARINI, P.F. Hygienicsanitary conditions of vegetables and irrigation water from kitchen gardens in themunicipality of Campinas, SP. Braz. **J. Microb**., v.32, n.4, p. 331-333, 2001.

SOARES, B.; CANTOS, G. A. Qualidade parasitológica e condições higiênicosanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Rev. bras. epidemiol**.v. 8, n. 4, p. 377-384, 2005.

TAKAYANAGUI, OM.; OLIVEIRA, CD.; BERGAMINI, AMM.; CAPUANO, DM.; OKINO, MHT.; FEBRÔNIO, LHP.; SILVA, AAMCC.; OLIVEIRA, MA.; RIBEIRO, EGA.; TAKAYANAGUI, AMM.; Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 34: 37-41, 2001.

TEFERA, T. T. *et al.* Parasitic Contamination of Fruits and Vegetables Collected from Selected Local Markets of Jimma Town, Southwest Ethiopia. **International Scholarly Research Notices**, v. 2014, p. 1-7, 2014.

VIEIRA, J. N.; PEREIRA, C. P.; BASTOS, C. G. G.; NAGEL, A. S.; ANTUNES, L. VILLELA, M. M. Parasitos em hortaliças comercializadas no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista deCiências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 12, n. 1, p. 45- 49, 2013.

VOLLKOPF, P. C. P.; LOPES, F. M. R.; NAVARRO, I. T. Ocorrência de enteroparasitos em amostras de alface (Lactuca sativa) comercializadas em Porto Murtinho - MS. **Arquivo de CiênciasVeterinárias e Zoologia da UNIPAR**. v. 9, p. 37-40, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Food and nutrition surveillance systems: a manualfor policy-makers and programme managers / World Health Organization. **Regional Office for theEastern Mediterranean**, 2014.

YUSOF, A. M. *et al*. Occurrence of Intestinal Parasitic Contamination in Select Consumed Local Raw Vegetables and Fruits in Kuantan, Pahang. **Tropical Life Sciences Research**, v. 28, p. 23-32,2017.

CAPÍTULO 04

AVALIAÇÃO DOS RISCOS AMBIENTAIS EM UMA SALA DE ABATE DE UM ABATEDOURO DE BOVINOS NA PARAÍBA

Caio Franklin Vieira de Figueiredo
Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais pela Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP
Endereço: Rua Almeida Cunha, nº 245, Bloco G4, Térreo, Boa Vista, Recife - PE. Brasil, CEP: 50.050-480.
E-mail: caiovieirafigueiredo@gmail.com

Paula Fernanda Barbosa de Araújo
Doutorado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE
Endereço: Rodovia Abelardo Jurema, PB-008, Km 7, Jacarapé III. CEP: 58.013-200. João Pessoa – PB. Brasil - Caixa-postal: 275.
E-mail: paula.emepa@hotmail.com

Aliane Cristiane de Sousa Formiga
Mestrado em Sistemas Agroindustriais pela Universidade Federal de Campina Grande-UFCG
Endereço: Rua Ten. Raimundo Rocha, nº 1639 - Cidade Universitária, Juazeiro do Norte –CE. CEP: 63.048-080.
E-mail: alianeformiga@gmail.com

Francisco Fabrício Damião de Oliveira
Mestrando em Meteorologia pela Universidade Federal de Campina Grande - UFCG
Endereço: Rua Aprígio Veloso, nº 882, Bairro Universitário, Campina Grande – PB. CEP: 58.428-830.
E-mail: fabricio_kunnga@hotmail.com

Glaucio de Meneses Sousa
Mestrado em Meteorologia pela UACA/CTRN/UFCG
Endereço: Rua Aprígio Veloso, nº 882, Bairro Universitário, Campina Grande – PB. CEP:58.428-830.
E-mail: glauciopsl@hotmail.com

Saul Ramos de Oliveira
Mestrado em Horticultura Tropical pela Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.Doutorado em andamento em Ciência do Solo pela Universidade Federal da Paraíba - UFPB
Endereço: Rodovia PB-079, Km 12, Campus Universitário, CEP: 58.397-000. Areia – PB. Brasil. Ramal: 1734.
E-mail: saul.oliveira.ramos@hotmail.com

Daniele Aparecida Monteiro Ismael
Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares pela Universidade Federal de Pernambuco – UFPE
Endereço: Av. José de Freitas Queiroz, nº 5000, Cedro, Quixadá/CE. CEP: 63.902-580.
E-mail: danieleambiental@hotmail.com

Raiff Ramos Almeida Nascimento
Mestrando em Agronomia pelo CCA/PPGA/UFPB
Endereço: Rodovia PB-079, Km 12, Campus Universitário, CEP: 58.397-000. Areia/ PB, Brasil.
E-mail: raifframosufpb@gmail.com

RESUMO: Com este estudo objetivou analisar as condições físicas (das construções, instalações, maquinário, equipamentos e utensílios) e os processos de trabalho de uma sala de abate que possam gerar riscos à saúde do trabalhador de um abatedouro de bovinos. Foi baseado na análise dos processos de trabalho e dos aspectos físico--ambientais da sala de abate de um matadouro de bovinos. Utilizou-se um instrumento de coleta de informações baseado nas legislações, considerando biossegurança. Observou-se que dos 26 pontos levantados sob os aspectos físico-ambientais da sala de abate apenas 1 não esta em conformidade, sendo assim foi identificado não conformidade que geram risco. Em suma, a empresa avaliada emprega um conjunto de ações preventivas de segurança, de ordem coletiva e individual que objetivam a proteção dos trabalhadores, possuem ainda relatórios das avaliações ambientais, suas instalações são providas de sistemas de ventilação e compartimentação, há equipamentos de proteção individual e coletiva para todos além de farta sinalização vertical e horizontal para facilitar a compreensão dos trabalhadores em todo o processo produtivo.

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos, indústria do abate, NBR's, produção animal, segurança do trabalho.

ABSTRACT: This study aimed to analyze the physical conditions (of buildings, installations, machinery, equipment and utensils) and the work processes of a slaughter room that may generate risks tothe health of a cattle slaughterhouse worker. It was based on the analysis of the work processesand the physical and environmental aspects of the slaughter room of a cattle slaughterhouse. An information collection instrument based on legislation was used, considering biosafety. Itwas observed that of the 26 points raised under the physical and environmental aspects of theslaughter room, only 1 is not in conformity, thus it was identified non-conformity that generaterisk. In short, the evaluated company employs a set of preventive safety actions, of a collective and individual order that aim to protect workers, also have reports of environmental assessments, its facilities are provided with ventilation and compartmentalization systems, there is individual protection equipment and collective for all, in addition to abundant vertical and horizontal signage to facilitate the understanding of workers throughout the production process

KEYWORDS: Cattle, slaughter industry, NBR's, animal production, work safety.

1. INTRODUÇÃO

A pecuária bovina está entre as principais atividades econômicas do Brasil, que vem despontando como um dos maiores produtores mundiais de carne bovina. Segundo o IBGE (2018), foram abatidas 7,72 milhões de cabeças de bovinos sob algum tipo de serviço de inspeção sanitária. O peso médio das carcaças de boi foi de 282,0 kg, onde apenas no 1º trimestre de 2018 o abate de 323,46 mil cabeças de bovinos a mais que no mesmo período de 2017.

Para cumprir as exigências impostas pelo mercado externo é necessária a estruturação de toda a cadeia de carne bovina. As indústrias exportadoras investem intensivamente em qualidade para atender as diretivas de medidas sanitárias e garantir a segurança do alimento (MARRA *et al*., 2017). Os Abatedouros Frigoríficos são destinados ao abate dos animaisprodutores de carne, à recepção, à manipulação, ao acondicionamento, à rotulagem, à armazenagem e à expedição dos produtos oriundos do abate, dotado de instalações de frio industrial, podendo realizar o recebimento, a manipulação, a industrialização, o acondicionamento, a rotulagem, a armazenagem e a expedição de produtos comestíveis e não comestíveis. Os frigoríficos possuem uma relação íntima com os agentes de risco e o primeiro deles é o ritmo intenso. Trabalhadores em frigoríficos chegam a realizar até 90 movimentos por minuto, sendo que o aceitável seria em torno de 30 movimento por minuto.

Os matadouros possuem geralmente uma forma de organização de trabalho composta por linhas de produção, em que se utilizam máquinas, equipamentos e dispositivos de corte, oque representam risco ocupacional considerável. As tarefas exigem continuamente habilidade manual e atenção com repetitividade de movimentos devido ao ritmo constante e acelerado. Assim, essas atividades devem ser realizadas com o uso de equipamentos de proteção individual (EPI). A relevância desses riscos induziu a publicação, pelo Ministério do Trabalhoe Emprego (MTE), da Norma Regulamentadora (NR) 36.

Avaliação dos riscos ambientais na sala de abate de um matadouro de bovinos especificamente da segurança e saúde no trabalho em empresas de abate e processamento de carnes e derivados (BRASIL, 2013). A NR36 estabelece requisitos mínimos para a avaliação, controle e monitoramento dos riscos ambientais. Ao considerar a importância dos riscos para o planejamento de medidas preventivas a fim de prevenir a exposição aos agentes perigosos à saúde, presentes no ambiente, minimizando a probabilidade de contaminação, acidentes e doenças ocupacionais de

trabalhadores de abatedouros; este estudo objetivou analisar as condições físicas (das construções, instalações, maquinário, equipamentos e utensílios) e os processos de trabalho de uma sala de abate que possam gerar riscos à saúde do trabalhador de um abatedouro de bovinos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no município de Santa Rita que está localizado na Microrregião Santa Rita e na Mesorregião Mata Paraibana do Estado da Paraíba. Segundo o IBGE (2018), sua área é de 728,113 km² representando 1.2873 % do Estado, 0.0467 % da Região e 0.0086 % de todo o território brasileiro.

Para o estudo de caso foi escolhido à empresa HONORATO & ARAUJO LTDA – EPP, tendo por nome fantasia ABATEDOURO DOIS IRMÃOS, CNPJ nº 01.179.091/0001-37. A sede está localizada as margens da RODOVIA PB-004, na altura do KM 02, s/nº, Santa Rita – PB, CEP: 58.302-515. Esse município foi escolhido por ter um estabelecimento de menor porte, ou seja, que abate até 100 cabeças de gado diariamente. De acordo com o IBGE no primeiro trimestre de 2018, esse tipo de abatedouro representou 80,4 % do total de abatedouros do País, sendo responsáveis por 17,6 % dos bovinos abatidos. Por outro lado, os estabelecimentos de maior porte, que abateram mais de 100 cabeças por dia, foram responsáveis por 82,4 % do total de animais abatidos, apesar de constituírem apenas 19,7 % do total de estabelecimentos.

2.2 ESTUDO DE CASO

É um estudo descritivo qualitativo, caracterizado quanto à natureza como não experimental, baseado na observação direta dos postos, processos de trabalho e aspectos físico-ambientais da sala de abate, de um matadouro de bovinos.

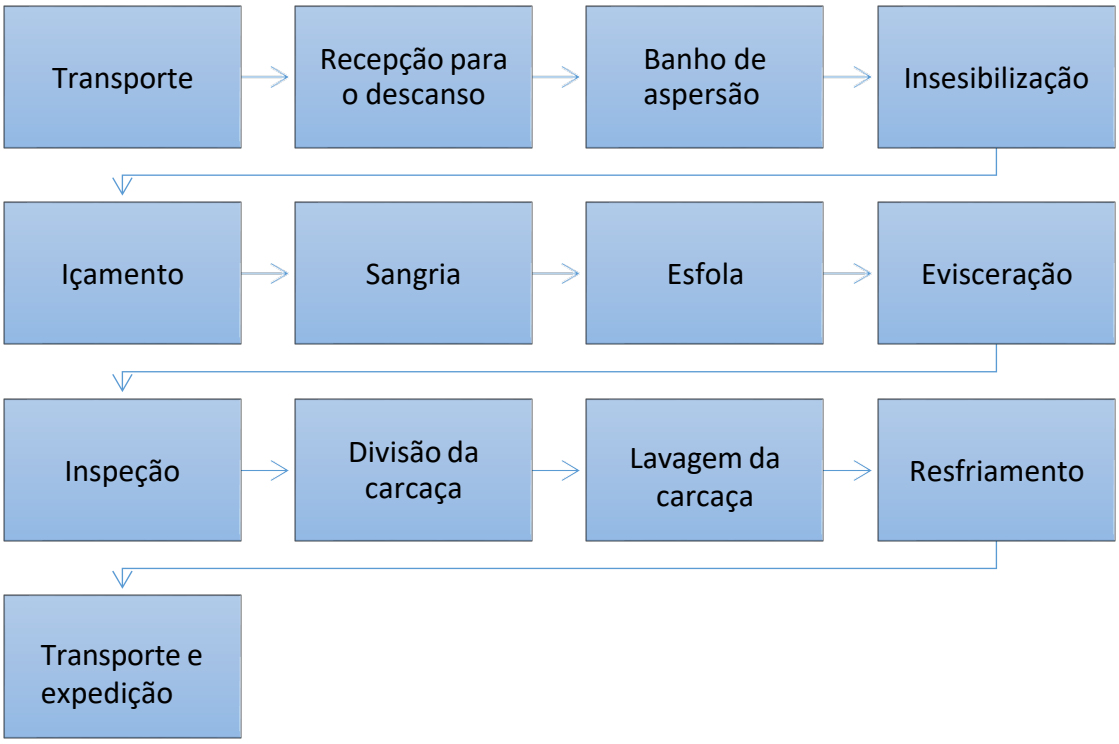
Para o levantamento e identificação dos riscos, em cada etapa da linha de abate, foi elaborado e aplicado um roteiro de observação composto por itens considerados obrigatórios, referentes aos seguintes fatores: postos e processos de trabalho, avaliação ambiental e riscos ocupacionais. A análise dos resultados foi feita a partir dos princípios da biossegurança e das legislações relacionadas à inspeção industrial e sanitária dos estabelecimentos de produtos de origem animal e nas NR nº 5, 7, 9, 15, 17 e 36, do TEM (MARRA *et al*., 2017).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O abatedouro estudado abate somente bovinos, e tem uma capacidade de abate diária de 100 cabeças. Possui uma população trabalhadora composta de 99 trabalhadores, que estão distribuídos pelos seguintes setores: atordoamento dos animais, sala de abate (sangria, esfola e remoção da cabeça, separação e limpeza de órgãos e vísceras, corte da carcaça), cortes e desossa, área de cozimento e embalagens, caldeira, tratamento de água e esgoto. Todos os trabalhadores são contratados pelo regime trabalhista celetista, cumprindo as NR relativas à Segurança e Medicina do Trabalho, estabelecidas a partir de 1978 pelo MTE.

A sala de abate é um dos locais de maior risco para os trabalhadores. Os animais chegam insensibilizados, são sangrados, coureados, as vísceras são retiradas e são feitos os cortes das meias carcaças. Cada parte tem um destino final diferente: graxaria, triparia, seção de miúdos cortume e câmara fria. As etapas do processo de trabalho executado na sala de abate demonstram a complexidade existente. Os operários se distribuem em diversos posicionamentos e funções dentro da sala de abate, desde a condução os animais até a seção de cortes, divisão e subdivisão das carcaças. Alguns trabalham em plataformas, outros no chão, ao longo da linha de abate. A figura 1 apresenta estas etapas e o Quadro 1 os riscos aos quais os trabalhadores estão sujeitos e que podem gerar problemas de saúde de caráter físico e psíquico.

Figura 1. Etapas do processo produtivo.



Fonte: Os Autores.

Esses riscos devem ser analisados sob múltiplos aspectos, dentre os quais, destacam-se: natureza e o tempo de exposição ao risco, intensidade, organização temporal da atividade, duração do ciclo de trabalho e distribuição das pausas.

Quadro 1. Análise do processo de produtivo, riscos e seus esforços associados.

Etapas	Riscos e esforços associados
Recepção e condução dos animais	Reação animal (coice, chifrada, cabeçada), esforço físico intenso, contato com fezes e urina.
Insensibilização com pistola pneumática	Processo automatizado, ruído.
Sangria	Contato com sangue, inalação de aerossóis, monotonia, aplicação de força, queda do animal, manipulação de material perfuro cortante, piso escorregadio.
Esfola (remoção de couro, cabeça e cascos)	Contato com sangue, inalação de aerossóis, manipulação de material perfuro cortante, temperatura e umidade excessivas,piso escorregadio.
Evisceração	Contato com sangue e fluidos corporais, queda de peças dos animais (órgãos) inalação de aerossóis, manipulação de material perfuro cortante, temperatura e umidade excessivas, piso escorregadio, postura inadequada.

Corte da carcaça	Manipulação de motosserra, esforço intenso anatômico e/ou Funcional das articulações, posições extremas, piso escorregadio, eletricidade, vibrações e ruído.
Cortes e desossa	Manipulação de faca, aplicação de força, umidade excessiva, baixa temperatura, piso escorregadio.
Refrigeração	Baixa temperatura, piso escorregadio maximizando a probabilidade de ocorrência referente a acidentes por queda.
Expedição	Acidentes (impactos, colisões e perfurações)

Fonte: Os Autores.

Na NR 15 foram estabelecidos os limites de tolerância baseado nos aspectos descritos. As atividades que por sua natureza, condições ou métodos de trabalho exponham os trabalhadores aos agentes de risco, acima dos limites de tolerância estabelecidos, são consideradas atividades ou operações insalubres (BRASIL, 2011). Os trabalhadores abatem animais por meio da sangria, retiram pele e vísceras, separam cabeças, órgãos e tecidos. Tratam vísceras limpando e escaldando. Preparam carnes para comercialização desossando, cortando, identificando tipos, marcando, fatiando e pesando. Realizam tratamentos especiais em carnes, salgando, secando, prensando e adicionando conservantes. Acondicionam as carnes em embalagens individuais, manualmente ou com o auxílio de máquinas de embalagem a vácuo. Seus recursos de trabalho são: balança, câmaras frias, equipamentos de segurança, diversos tipos de facas, gancho, serras elétricas, entre outros.

O ritmo de trabalho na sala de abate é intenso e todas as atividades são executadas comrapidez devido à velocidade das esteiras, que é estabelecida pelas metas rígidas de produção, exige do trabalhador rapidez, força legalidade; além de muita atenção devido à utilização constante de instrumentos como serras, facas, chaira para afiar as facas, pistola pneumática e os fragmentos ósseos (VASCONCELOS; PIGNATTI; PIGNATI, 2009; MARRA *et al.*, 2017). De acordo com Vasconcellos, Pignatti e Pignati (2009) a faca é responsável por 43,3 % dos acidentes de trabalho registrados entre trabalhadores de matadouros. Apontam ainda para a colocação do setor na segunda posição em notificação de acidentes de trabalho, registrados pelas Comunicações de Acidentes de Trabalho, representando 10 % dos acidentes no período de 2000 a 2005.

Observou-se que dos 26 pontos levantados sob os aspectos físico-ambientais da sala de abate apenas 1 não esta em conformidade, sendo assim foi identificado não

conformidade que geram risco (Tabela 1).

Tabela 1. Visualização se os aspectos físicos e ambientais da indústria utilizada no estudo de caso estão ou não em conformidade.

Aspecto observado	Conformidade?
Está construído no centro do terreno e afastado dos limites das vias públicas?	Sim
Possui currais, bretes,Convenientemente pavimentados ou impermeabilizados, Providos de bebedouros e comedouros, demais instalações para recebimento, estacionamento e circulação de animais?	Sim
Há luz natural e artificial abundantes?	Sim
As paredes e separações dos ambientes revestidos ou impermeabilizados?	Sim
As escadas são construídas de concreto armado, alvenaria ou metal, provida de corrimão?	Sim
O aparelhamento mecânico oferece garantia de segurança, resistência e estabilidade?	Sim
Possui mesas de aço inoxidável para os trabalhos de manipulação e preparo de matérias-primas e produtos comestíveis?	Sim
Possui sistema de tratamento de efluentes?	Sim
Possui um local destinado à rouparia, vestiários, banheiros e demais dependências necessárias, em número proporcional ao pessoal?	Sim
Possui pátios e ruas pavimentados?	Sim
Possui o selo do Serviço de Inspeção Estadual?	Sim
Possui Licenciamento Ambiental de Operação emitida pelo órgão Estadual?	Sim
Possui Responsável Técnico registrado no CRMV-PB?	Sim
Possui Alvará de Funcionamento da Vigilância Sanitária emitida pelo órgão competente?	Sim
Possui grupo gerador de 500 Kva Diesel capaz de suprir faltas eventuais de energia?	Sim
Ruído excessivo?	Não
O abatedouro possui área suficiente para ampliação e construção outro edifício e demais dependências?	Sim
Os Pisos são impermeabilizados?	Sim
Possui sala de abate separada fisicamente das demais dependências, como triparia, desossa?	Sim
A área total do abatedouro de foi calculada conforme a capacidade de abate diária?	Sim
Possui manual de boas práticas?	Sim
Possui algum tipo de barreira sanitária (Lavador de botas - Lavador de mãos)?	Sim

Há equipamentos de proteção individual e coletiva suficientes para os colaboradores?	Sim

Possui sistema de proteção e combate a incêndio?	Sim
Possui Sistema de proteção contra descargas atmosféricas?	Sim
Possui Programa de Prevenção de Riscos Ambientais?	Sim

Fonte: Adaptado Marra *et al*. (2017).

O abatedouro esta construído no centro do terreno e afastado das vias públicas no mínimo 5 m de acordo com Brasil (1952) (Figura 2).

Figura 2: Localização do Abatedou Honorato.

Fonte: Google Earth, 2019.

As escadas, equipamentos mecânicos e guindastes analisados também foram considerados adequados quanto às condições de resistência, solidez, estabilidade e segurança. O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (Riispoa) determina que os estrados utilizados para adequação do plano de trabalho ao trabalhador, nas atividades realizadas em pé, devem ter dimensões, profundidade, largura e altura que permitamuma movimentação segura. As escadas, passarelas, plataformas e rampas devem ter uma largura útil mínima de 0,60 cm. As escadas devem ter uma profundidade mínima de 0,15 cm (BRASIL, 1952).

Possui currais, bretes, convenientemente pavimentados ou impermeabilizados, Providos de bebedouros e comedouros, demais instalações para recebimento, estacionamento e circulação de animais em conformidade. A luz natural e artificial

em conformidade não prejudicando nas atividades realizadas pelos trabalhadores. O Riispoa determina que os locais de trabalho devam possuir sistema de iluminação permanente, que possibilite boa visibilidade dos detalhes do trabalho, para evitar zonas de sombra ou de penumbra e efeito estroboscópico (BRASIL, 1952). A NR17 define os níveis mínimos de iluminamento a serem observados nos locais de trabalho (Brasil, 2007). O valor de iluminância estabelecida na NBR 5413 é de 500 lux nas mesas de processamento de carnes (ABNT, 1992). Já Marra *et al*. (2017) avaliando um matadouro de bovinos no Rio de Janeiro observaram que a iluminação do mesmo não seguias recomendações da ABNT (1992).

Os pisos não eram escorregadios, nas áreas de evisceração, resfriamento e cortes. Sendo esse um ponto importante, pois, devido aos grandes volumes de líquidos produzidos pelo processo de trabalho, geram, além de elevada umidade relativa, a possibilidade de acidentes com quedas em nível e de nível (de plataformas com alturas superiores a 2 metros). As plataformas móveis eram estáveis, para não permitir a movimentação ou tombamento durante o trabalho. As passarelas, plataformas, rampas e escadas devem propiciar condições seguras de trabalho, circulação, movimentação e manuseio de materiais. Devem ser adequadas às características da atividade, para facilitar a tarefa, com segurança, sem uso excessivo de força e sem a exigência de posturas extremas ou nocivas de trabalho.

Os equipamentos mecânicos e guindastes fazem parte os componentes que compõem o ambiente físico imediato ao trabalho em matadouros, no qual os trabalhadores desenvolvem suas atividades. Cada componente deve ter adequação ergonômica, porém, para tanto, é necessário apresentar ainda um bom arranjo de seus componentes, adaptar-se às características anatômicas e fisiológicas do trabalhador e uma correta distribuição espacial, sendo observada essa conformidade durante o estudo. Os problemas musculo esqueléticos são as doenças ocupacionais mais frequentes entre os profissionais de matadouros (JAKOBI *et al*., 2015). Outros estudos ressaltam também os distúrbios psicossociais como patologias mais frequentes entre estes trabalhadores, dentre elas, destacam-se: depressão, angústia, estresse, alteração no comportamento e uso de drogas e álcool (TAVOLARO *et al.*, 2007; JAKOBI *et al*., 2015).

A única observação que não esta nas conformidades e a do ruido, foram detectados altos índices de ruídos e vibrações. As principais fontes de ruído detectadas foram em operações de corte com serras elétricas, na área de evisceração

e na área de pendura do animal, onde os péssão presos nas nórias. A presença do ruído durante o horário de trabalho seja contínuo, intermitente ou de impacto, pode levar à perturbação com redução da concentração, e com o tempo à perda auditiva, denominada 'perda auditiva induzida pelo ruído' (Pair). A NR15, estabelece que o limite de tolerância diária a que um trabalhador pode ficar exposto aos ruídos contínuos é de 8 horas para o nível de 85 dB (BRASIL, 2011). É importante ressaltar que o nível de ruído aceitável para efeito de conforto é de no máximo 65 dB (BRASIL, 2007), assim ruídos acima desse nível podem gerar estresse e ocasionar acidentes, uma vez que o trabalho na salade abate é de alta precisão, devido à utilização constante de facas e serras. Para controlar a exposição ao ruído ambiental, devem ser adotadas medidas que priorizem sua eliminação (como, por exemplo, o enclausuramento da fonte de ruído), redução da sua emissão (como a aquisição de serra elétrica menos ruidosa e o acolchoamento dos ganchos) e redução da exposição dos trabalhadores (uso de equipamentos de proteção individual como os protetores auriculares), nesta ordem (BRASIL, 2013).

A conformidade com a utilização dos equipamentos de proteção individual é importante, pois os trabalhadores da sala de abate estão expostos por contato direto com a carne, sangue, vísceras, fezes, urina, secreções vaginais ou uterinas, restos placentários, líquidos e fetos de animais, que podem estar infectados com zoonoses, colocam o risco biológico entre os riscosde maior importância (JOHNSON *et al.*, 2011; JAKOBI *et al*., 2015). Os agentes biológicos são classificados quanto ao risco a partir de fatores relacionados com o potencial de risco para o indivíduo, para a comunidade e o meio ambiente, tais como: endemicidade, resistência a drogas, alteração genética, concentração, volume, existência de medidas profiláticas e de tratamento (MARRA *et al*., 2017).

4. CONCLUSÕES

O empreendimento em questão abate apenas bovinos, e tem uma capacidade de abate diária de 100 cabeças, com quadros compostos de 80 trabalhadores, distribuídos pelos setores: recepção, atordoamento dos animais, sala de abate, cortes e desossa, área de cozimento e embalagens, caldeira, tratamento de esgoto. Os trabalhadores ali lotados são contratados pelo regime CLT, ou seja, trabalhista celetista, cumprindo as NR´s relativas à Segurança e Medicina do Trabalho.

Ficou perceptível que as condições envoltas a tecnologias, organização do

ambiente de trabalho e ambientais, em uma indústria de abate bovino, podem se tornar fatores de riscos aosseus trabalhadores quando administrado e geridos de maneira negligente. Evidenciou-se a necessidade de correção de não-conformidades relativas, sobretudo, à enclausuramento de máquinas e equipamentos, nas tentativas de assim reduzir ou minimizar tal risco ambiental físico na fonte geradora.

Os riscos ambientais podem e devem ser minimizados pela adoção de novas práticas; partindo inicialmente de um Programa de Gestão Ambiental e de Biossegurança até a inserçãode ginástica laboral nas jornadas diárias como requisitos mínimos. Não se pode deixar passartambém a realização de uma avaliação, controle e monitoramento dos riscos existentes nas atividades desenvolvidas pela indústria de abate e processamento de carnes de maneira mais efetiva, com o auxílio de softwares e recursos humanos.

Em suma, a empresa avaliada emprega um conjunto de ações preventivas de segurança, de ordem coletiva e individual que objetivam a proteção dos trabalhadores, possui ainda relatórios das avaliações ambientais, suas instalações são providas de sistemas de ventilação e compartimentação, há equipamentos de proteção individual e coletiva para todos além de farta sinalização vertical e horizontal para facilitar a compreensão dos trabalhadores em todo o processo produtivo.

Como recomendações, estas sendo dirigidas de bom tom a gerência e diretoria, é salutar que se faça o Monitoramento anual de exposição ao ruído, Monitoramento biológico periódico dos trabalhadores, Realizar estudo para elaboração da Análise Ergonômica – AET com um profissional de reconhecida proficiência no tema, reforçar à sinalização já existente nos setores onde seja obrigatório a utilização do E.P.I., elaborar sempre que necessário “Ordens de Serviço”conforme exigências trabalhistas e ambientais, Promover treinamento para uso de EPI´s conforme NR-06, realizar estudo de viabilidade para uma possível implementação de Recuperação de Pausa Térmica e por fim realizar um controle mais rigoroso de acesso a entrada na Câmara Fria.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Norma Brasileira nº 5413. **Iluminância de Interiores**. Rio de Janeiro: ABNT, 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto n° 30691, de 29 de março de 1952. **Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 29 mar. 1952. Disponível em: . Acesso em: 11 mar. 2017.

_____. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora n° 15. **Atividades e Operações Insalubres.** Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 09 dez. 2011. Disponível em: . Acesso em: 23 maio 2017.

_____. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora n° 17. **Ergonomia**. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 26 jun. 2007. Disponível em: . Acesso em: 23 maio 2017.

_____. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora n° 36. **Segurança e Saúde no Trabalho em Empresas de Abate e Processamento de Carnes e Derivados**. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 19 abr. 2013. Disponível em: . Acesso em: 23 maio 2017.

IBGE. Paraíba »Santa Rita » síntese das informações. 2018. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/santa-rita/historico>. Acesso em 03 jun. 2019.

JAKOBI, H. R.; BARBOSA-BRANCO, A.; BUENO, L.F. et al. Benefícios auxílio-doença concedidos aos trabalhadores empregados no ramo de carne e pescado no Brasil em 2008. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 31, n. 1, p. 194-207, 2015.

JOHNSON, E. S.; NDETAN, H.; FELINI, M.J. et al. Mortality in workers employed in pig abattoirs and processing plants. **Environmental Research,** v. 111, n. 6, p. 871-6, 2011.

MARRA, G. C.; COHEN, S. C.; AZEVEDO NETO, F. P. B. et al. Avaliação dos riscos ambientais na sala de abate de um matadouro de bovinos. **Saúde Debate,** v. 41, n. Especial, p. 175-187, jun., 2017.

TAVOLARO, P.; PEREIRA, I. M. T.B.; PELICIONI, M.C.F. et. al. Empowerment como forma de prevenção de problemas de saúde em trabalhadores de abatedouros. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 2, p. 307-12, 2007.

VASCONCELLOS, M. C.; PIGNATTI, M. G.; PIGNATI, W. A. Emprego e acidentes de trabalho na indústria frigorífica em áreas de expansão do agronegócio, Mato Grosso, Brasil. **Saúde e Sociedade**, v. 18, n. 4, p. 662- 72, 2009.

CAPÍTULO 05

PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND USE OF CHIA MUCILAGE (*SALVIA HISPANICA* L.) IN THE REDUCTION OF FAT IN COOKIES.

Maria Clara Rocha
Master in Food Science
Food Science Department, Federal University of Lavras, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brazil.
E-mail: rocha.mariaclara@hotmail.com
OrcidiD: https://orcid.org/0000-0002-5264-7514.

Maria da Penha Píccolo
PhD in Food Science and Technology
[b]Department of Food Engineering, Federal University of Espírito Santo, CEP 29500-000, Alegre, ES, Brazil.
E-mail: penhapiccolo@gmail.com.
OrcidiD: https://orcid.org/0000-0001-8550-1661.

Wilson César de Abreu
PhD in Food Science
Nutrition Department, Federal University of Lavras, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brazil.
E-mail: wilson@ufla.br
OrcidiD: https://orcid.org/0000-0002-0928-3030.

Antonio Manoel Maradini Filho
PhD in Food Science and Technology
Department of Food Engineering, Federal University of Espírito Santo, CEP 29500-000, Alegre, ES, Brazil.
E-mail: antoniomaradinifilho@yahoo.com
OrcidiD: https://orcid.org/0000-0001-7692-6350.

Maria de Fátima Píccolo Barcelos
PhD in Food and Nutrition
Food Science Department, Federal University of Lavras, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brazil.
E-mail: piccolob@gmail.com
OrcidiD: https://orcid.org/0000-0003-0691-5626.

ABSTRACT: The prevention of non-communicable chronic diseases can be obtained, among other factors, by the reduction of fat of foods. In this context, chia seeds (*Salvia hispanica* L.) prove interesting to the making of foods with a reduced fat content for presenting in their composition a considerable amount of dietary fiber(mucilage) with potential use as a fat replacer. In this work, chia seed mucilage was extracted and some of their physicochemical properties as well their use in the fat replacement (butter) in cookies at the levels of 10, 20 and 30 g/100g were investigated, which were analyzed, afterwards. Chia mucilage presented high values of solubility, water-holding capacity and emulsifying activity and displayed beige color. The cookies with fat replacement by chia mucilage presented reduction in the lipid contents and in the L*

and b*parameters. Cookies presenting replacement of 20 and 30 g/100g of the fat showed greater hardness. In the treatments with a replacement of 10 and 20 g/100g variations of sensorial acceptance of ‘I liked it slightly’ to ‘I liked it moderately” were observed. Chia mucilage proved a promising alternative to be utilized as a fat replacer in cookies.

KEYWORDS: *Salvia hispanica* L., dietary fiber, biscuits, fat replacers.

RESUMO: A prevenção das doenças crônicas não transmissíveis pode ser obtida, entre outros fatores, pela redução da gordura dos alimentos. Nesse contexto, as sementes de chia (*Salvia hispanica* L.) mostram-se interessantes na produção de alimentos com reduzido teor de gordura por apresentarem em sua composição uma quantidade considerável de fibra alimentar (mucilagem) com potencial uso como substituto de gordura. Neste trabalho, foi extraída a mucilagem da semente de chia e investiga das algumas de suas propriedades físico-químicas bem como sua utilização na substituição de gordura (manteiga) em biscoitos nos níveis de 10, 20 e 30 g/100g, os quais foram analisados posteriormente. A mucilagem de chia apresentou elevados valores de solubilidade, capacidade de retenção de água e atividade emulsificante e apresentou coloração bege. Os biscoitos com substituição de gordura por mucilagem de chia apresentaram redução no conteúdo lipídico e nos parâmetros L* eb*. Osbiscoitos com substituição de 20 e 30 g/100g da gordura apresentaram maior dureza. Nos tratamentos com substituição de 10 e 20 g/100g foram observadas variações na aceitação sensorial entre ‘gostei um pouco’ e ‘gostei moderadamente”. A mucilagem de chia se mostrou uma alternativa promissora para ser utilizada como substituto de gordura em biscoitos.

PALAVRAS-CHAVE: *Salvia hispanica* L., fibra alimentar, biscoitos, substitutos de gordura.

1. INTRODUCTION

The increased risk of noncommunicable diseases (NCDs), such as cardiovascular diseases, type 2 diabetes, dyslipidemia and cancer, has been attributed, among others, to excess consumption of high energy density foods associated with sedentary lifestyle (WHO, 2005; WHO, 2010; AZEVEDO *et al*., 2014). Modifications in the diet and lifestyle such as reduction of total energy intake and practices of physical exercises can considerably prevent such problems (SWANSON & MUNSAYAC, 1999; LAGUNA *et al*., 2014).

Aiming to recover the quality of life, the consumer has become more and more demanding and worried about seeking a more wholesome diet. It is found in this context, the highlight for chia seeds (*Salvia hispanica L*.) that present quantities regarded as gluten-free proteins, essential fatty acids and dietary fiber, standing out the mucilage of relevant hydrocolloid action that acts as soluble fiber and exhibits water -holding properties, viscosity development, freshness preservation, high solubility in water and thickening properties, in addition to containing minerals, vitamins and phenolic acids, being a potential ingredient for the development of more wholesome foods (VIEBKE, AL-ASSAF& PHILLIPS, 2014; CAPITANI *et al*., 2015; PINTADO *et al*., 2016; LOPES *et al.*, 2020).

The food industry has focused on producing low calorie foods in response to the great public interest. One of the strategies in the manufacture of more wholesome foods is established in obtaining products with reduced fat content. In this way, fat substitutes, *fat replacers*, described as ingredients of food formulations that replace some or all of the functions of fat, but do not present calories or have a reduced calorie value (LINDSAY, 2010; LI&NIE, 2016).

Biscuits present good acceptance and are consumed by children, teenagers and the elderly; however, some are high in fat and sucrose and are therefore generally avoided by consumers concerned with health maintenance (MAURO, SILVA, & FREITAS, 2010). However, cookies can become less caloric by replacing the amount of fat with ingredients with reduced or even devoid of caloric potential, such as fibers, which act as fat substitutes (SWANSON & MUNSAYAC, 1999).

Due to its structure, chia mucilage can be used in various applications in the food industry in the making of more wholesome products, thus presenting great potential as a fat substitute in cookies.

The objective of this work was to evaluate the physicochemical properties of the mucilage extracted form chia seeds and utilize it as a partial replacer of fat in cookies and evaluate both objectively and sensorially the biscuits made with fat replacements.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 MATERIAL

Chia seeds (*Salvia hispanica L.*) and the ingredients used in the manufacture of cookies (wheat flour, granulated sugar, butter, baking powder, vanilla essence, egg and salt) were purchased inLavras commerce, Minas Gerais. In the laboratory, the packed chia seeds as well as some ingredients (butter and egg) were stored in a refrigerator (5 ° C to 8 ° C) till the moment of use and analysis. The mucilage extracted from the chia seed used in replacement in part of butter in the manufacture of the cookies was freeze-dried, packed in a plastic bag and stored in a desiccator. The lipid content of the butter of 86 % was considered, as expressed in the Brazilian Table of Food Composition (TACO).

2.2 METHODS

2.2.1 Mucilage extraction

Chia mucilage was obtained according to Muñoz et al. (2012) with modifications. The chia seeds were ground in distilled water at the proportion water: seed of 1:40 (w/v) at the temperature of 85 °C for 30 minutes under gentle and constant stirring. The hydrated seeds were placed onto glass plates 14 cm in diameter with thin film formation and submitted to drying in an oven at 50 ºC for 16 h. After drying, the chia seeds were removed from the platewith the aid of a spatula and the mucilage was rehydrated with about 4 ml of distilled water per plate. The rehydrated mucilage was subjected to dehydration in L4KR lyophilizer (Edwards), crushed in MA350 ball mill (Marconi) for 2 minutes and packed in plastic package in desiccator.

2.2.2 Proximate composition of chia seeds and mucilage

Moisture, lipids, crude protein and fixed mineral residue (ashes) of the seeds and chia mucilage were performed according to AOAC methodology (1990). Crude fiber was determined by acid hydrolysis and quantified using the gravimetric method according to Van de Kammer and Van Ginkel (1952). The carbohydrates were obtained by the difference between 100 and the sum of the values of moisture, lipids, crude protein, crude fiber and ashes.

2.2.3 Physicochemical properties of chia mucilage

2.2.3.1 Solubility

The solubility of the mucilage was determined in triplicate following the technique proposed by Betancur-Ancona, López-Luna, and Chel-Guerrero (2003). 1% (w/v) mucilage solutions were prepared and placed in a water bath at the temperature of 30 °C with constant stirring for 30 minutes. The contents were transferred to centrifuge tubes, centrifuged at 980 x g for 15 min (Labor SP-701 refrigerated centrifuge, 116 mm of radius) and the pH of the solution was measured. Aliquots of 10 mL of the supernatant were placed in pre-weighed porcelain crucibles and then oven-dried at 120 ° C for 4 h. The crucibles were removed from the oven, allowed to cool in a desiccator and weighed. The solubility, in percent, was calculated according to the equation 1:

$$\% \text{ solubility} = \frac{\text{mucilage weight after drying (g)}}{\text{weight of the initial sample (g)}} \times 100 \qquad (1)$$

2.2.3.2 Water-holding capacity and oil-holding capacity

The water-holding capacity (WHC) and oil-holding capacity (OHC) of chia mucilage were determined in triplicate according to the methodology proposed by Chau, Cheung and Wong (1997) with modifications. 0.1g of sample (dry basis) was weighed and 10mL of distilled water or corn oil (oil density = 0.92g / mL, Mazola) was added to a centrifuge tube. This suspension was homogenized in vortex for 1 minute and centrifuged at 2,200 x g for 30 minutes (Labor SP-701 refrigerated centrifuge, 116 mm of radius). The supernatant was discarded and the residue was weighed, determining the weight gain of water or oil by mucilage. The WHC of the mucilage was expressed in g of water retained per g of sample and the OHC in g of oil retained per g of sample (Equation 2).

$$\text{WHC and OHC (g/g)} = \frac{\text{residue weight (g)} - \text{initial weight of the sample (g)}}{\text{initial weight of the sample (g)}} \qquad (2)$$

2.2.3.3 Emulsifying activity (EA)

The emulsifying activity (AE) was determined according to Chau, Cheung and Wong (1997) with modifications. 0.5 g of chia mucilage was weighed; 25 mL of distilled

water was added and that solution was homogenized in a Turratec TE-102 homogenizer (Tecnal) at 20,000 rpm for 2 minutes. Then, 25 mL of corn oil (density = 0.92 g/mL) was added and homogenized at 22,000 rpm for 2 minutes. Then samples were centrifuged (Labor SP-701 refrigerated centrifuge, 116 mm of radius) at 2,000 rpm for 10 minutes and the remaining volume of the emulsion measured. The emulsifying activity was calculated as follows (Equation 3):

$$EA\ (\%) = \frac{\text{volume of the emulsion (mL)}}{\text{total volume of the solution (mL)}} \times 100 \qquad (3)$$

2.2.4 Instrumental color

The analysis of instrumental color was performed on the mucilage samples in three replicates using a CM-5 (Konica Minolta Sensing) spectrophotometer, analyzing the color parameters L *, a * and b *. The L * (lightness factor) ranging from black (0) to white (100), a * from green (-a*) to red (+a*) and b * from blue (-b*) to yellow (+b*).

2.2.5 Scanning electron microscopy

The freeze-dried chia mucilage was characterized by scanning electron microscopy (SEM) using a LEO EVO 40 XVP (Carl Zeiss) microscope, according to Capitani et al. (2013). The samples were fixed in stands with the aid of double-sided carbon tape and covered by a layer of gold in a gold evaporator (Sputtering) SCD 050 (Bal-Tec). The images were increased from 10 to 200 x.

2.2.6 Preparation of the cookies

The dough of the biscuits was obtained following the formulation shown in Table 1. First, the butter, egg, sugar and vanilla were mixed and, after complete homogenization, the mixture was added to the dry ingredients (wheat flour, baking powder, salt and chia mucilage, when used). The biscuits were rolled, molded with 36 mm in diameter and 10 mm thick and baked at 160 ° C for 8 minutes. After the cooled, they were packed in closed containers till the moment of the analyses.

Table 1. Formulations of cookies with fat replacement of butter by freeze-dried chia mucilage.

Ingredients	Formulations(g/100g)			
	CC	CI	CII	CIII
wheatflour	50.30	50.30	50.30	50.30
sugar	14.90	14.90	14.90	14.90
butter	11.80	10.62	9.44	8.26
vanilla	3.15	3.15	3.15	3.15
chia mucilage	0	1.18	2.36	3.54
egg	18.85	18.85	18.85	18.85
bakingpowder	0.80	0.80	0.80	0.80
salt	0.20	0.20	0.20	0.20

CC= Control cookie without replacement of fat (butter); CI, CII e CIII= cookies with replacements of 10, 20 and 30 % of the fat by chia mucilage, respectively.

2.2.7 Proximate composition of the cookies

The analyses of moisture, lipid, crude protein and ash were carried out according to the AOAC (1990). The crude fiber was determined by acid hydrolysis and quantified using the gravimetric method according to Van de Kammer and Van Ginkel (1952). The carbohydrates was obtained by the difference between 100 and the sum of the values of moisture, lipids, crude protein, crude fiber and ashes.

2.2.8 Physical properties of the cookies

The analyses of instrumental color were performed on the biscuits in four replicates using a Konica Minolta colorimeter (model CR400), analyzing the L*, a*, b* color parameters.

The texture of the cookies was obtained in a texturometer (Stable Micro Systems Model TA-XT2i) in four replications, under the following conditions: pre-test velocity of 2.5 mm /s, test velocity of 2.0 mm/s, post-test velocity of 10.0 mm/s, distance of 2.5 mm of compression with cylindrical probe of aluminum of 6.0 mm (PAREYT *et al.*, 2009).

2.2.9 Sensorial analysis

The sensorial evaluation of the cookies was conducted with 100 untrained tasters in individual booths in the Sensory Analysis Laboratory of the Federal University of Lavras (Lavras - MG). Each evaluator was given four cookies at room temperature in disposable plastic containers, coded with three digit figures, in a balanced manner and under white light.

For the sensory acceptance test of the products, the tasters evaluated the samples for flavor, texture, aroma and overall impression using a structured hedonic scale of 9 (nine) points, with value 1 being defined as 'highly disliked' and value 9 as 'highly liked'. The purchase intention test was also carried out through a structured scale of 5 (five) points, ranging from 1 = I certainly would not buy to 5 = I would certainly buy (STONE & SIDEL, 2004). The obtained scores were analyzed statistically by means of analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test, considering the level of significance of 5 % using Senso Maker Software version 1.9 (NUNES & PINHEIRO, 2014).

2.2.10 Statistical analysis

The experiment was conducted in a completely randomized design with four treatments and four replications. The data were submitted to analysis of variance (ANOVA) using the statistical program Sisvar version 5.6 (FERREIRA, 2014), performing a mean test (Tukey) when necessary at the 5 % significance level for chemical composition, color and texture of the cookies. In the sensorial analysis, Senso Maker Software version 1.9 was employed.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 PROXIMATE COMPOSITION OF CHIA SEEDS AND MUCILAGE

The yield was 6.44 g of freeze-dried chia mucilage/100 g of chia seeds. Table 2 shows the average values of the proximate composition of the chia seeds and the freeze-dried chia mucilage.

Table 1. Proximate composition of the chia seeds and of the freeze-dried chia mucilage.

Component	Chia seeds* (g/100g)	Freeze-dried chia mucilage* (g/100g)
moisture	7.66 ± 0.05	2.41 ± 0.32
lipids	30.38 ± 1.29	1.03 ± 0.12
protein	18.77 ± 0.82	8.21 ± 0.19
crudefiber	9.42 ± 0.18	14.33 ± 0.06
ash	4.15 ± 0.09	6.86 ± 0.03
carbohydrates	37.28 ± 0.62	69.57 ± 0.13

Mean ± standard deviation. *Values expressed in dry matter, except moisture.

Chia seeds presented high values of lipids and proteins, their being an important source of oil and its use is interesting in the formulation of foods destined to celiac

people. Similar values were found by other authors (BUSHWAY, BELYEA, &BUSHWAY, 1981; AYERZA & COATES, 2011; COELHO & SALLAS-MELADO, 2014a; SEGURA-CAMPOS *et al*., 2014a, TIMILSENA *et al*., 2016b). The amount of lipids in the chia mucilage was very low (1.03 %), probably due to the low solubility of lipids in water, which makes its use as an ingredient in low fat food sinteresting. Similar results of lipids, proteins, crude fiber and ashes in chia mucilage were obtained by CAPITANI *et al.* (2015).

3.2 PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF CHIA MUCILAGE

3.2.1 Solubility

The solubility of the chia mucilage dispersions at 1% w/v at the temperature of 30 ° C and pH of 6.49 in this work was of 79.49% ± 1.50. High water solubility values of chia mucilage near room temperature indicate its promising application in food. High solubility for the use of mucilage as texture and viscosity modifiers and to stabilize emulsions or dispersions is desirable (TIMILSENA *et al*., 2016a). This value found corroborates with values of solubility obtained by Capitani *et al*. (2013) for chia mucilage at different temperatures (25-80 °C), which presented percentages of solubility ranging from 66 to 87 %.

3.2.2 Water holding capacity (WHC) and oil holding capacity (OHC)

The water holding capacity (WHC) of chia mucilage was of 97.12 ± 0.08 g water/g mucilage. That high value of WHC is desirable for the modification of the physical properties of food products and for the stabilization of emulsions (TIMILSENA *et al*., 2016a).

In this work, the WHC of the mucilage of chia was similar to that obtained by Segura-Campos *et al.* (2014a) of 100 g water/g chia mucilage, higher than that verified by Timilsena *et al.* (2016a) (23 g/g) and by Felisberto *et al.* (2015) (57.33 g/g) for chia mucilage and higher than that found in guar gum (25 g/g) (TIMILSENA *et al.*, 2016a).

Due to the capacity of mucilage to hold water, when added to foods, it may contribute to increased satiety, decrease nutrient absorption time and in the control of blood sugar levels (VÁZQUEZ-OVANDO *et al*., 2009; COELHO &SALLAS-MELADO, 2014b).

Oil holding capacity (OHC) is attributed to the physical entrapment of oil by molecules such as lipids and proteins (SEGURA-CAMPOS *et al.*, 2014a). The chia mucilage showed a OHCof 7.38 ± 0.20 g oil/g mucilage, value similar to that of gum arabic (8-9 g oil/g sample) and higher than that found in guar gum, xanthan gum (4-6

g/g) and in fraction of fiber-rich chia (2.02 g/g) (VÁZQUEZ-OVANDO *et al*., 2009). Low OHC (7.38 g/g) of mucilage was found when compared with that found by Felisberto et al. (2015) (12.97 g/g) and Segura-Campos *et al*. (2014b) (11.67 g/g). Due to its low OHC, chia mucilage can be utilized in fried products for providing a non-greasy feeling in foods (VÁZQUEZ-OVANDO *et al*., 2009).

3.2.3 Emulsifying activity

The emulsifying activity (EA) of chia mucilage was of 94.06% ± 1.32. That value indicates that chia mucilage contributed in the process of emulsion formation by the reduction of surface tension on the interface of the immiscible phases oil and water, which suggests its use in food products. The high value of emulsifying activity of fibers indicates an important beneficial physiological effect due to the ability to adsorb bile acids, providing probable increase of the excretion of them and consequently limiting the reabsorption process of these acids in the small intestine, thus reducing blood cholesterol levels (VÁZQUEZ-OVANDO *et al*., 2009).

Koocheki *et al.* (2009) investigated the influence of gum of *Alyssum homolocarpum* in oil/water emulsions and found values of EA of about 96 %, similar to that found in the chia emulsions in this study.

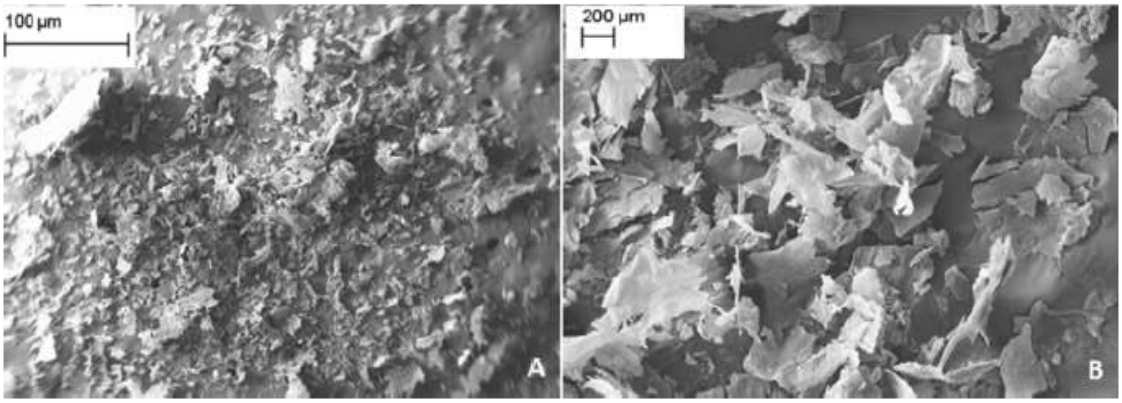
3.3 INSTRUMENTAL COLOR

The values of instrumental color of chia for L*, a* and b* were of 74.28 ±0.64, 1.99 ± 0.06 and 14.58 ± 0.15. The chia mucilage presented coloration with a tendency to yellow and visually color closer to beige.

3.4 SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

As to scanning electron microscopy (SEM), the images of the freeze-dried chia mucilage were found in Figure 1. It can be viewed that the freeze-dried mucilage presents appearance of overlapped leaves, with a brittle aspect and little uniformity, as also viewed by CAPITANI *et al.* (2013).

Figure 1. Images obtained by SEM of the freeze-dried chia mucilage: (A) 19x and (B) 167x.



Source: Own author.

3.5. PROXIMATE COMPOSITION OF THE COOKIES

The average values of the proximate composition of the cookies manufactured by replacing fat, i.e., butter by chia mucilage, are described in Table 3.

The moisture (Table 3) of the cookies ranged from 8.65 % to 10.75 %. The lipid content of the cookies decreased significantly ($P<0.05$) with the increase of their replacement by chia mucilage, being the lower fat content obtained in the CIII treatment, however, this did not differ significantly from CII treatment. The protein content was not altered, however, significant differences ($P<0.05$) in the crude fiber contents were found, with a higher value found for CIII treatment and a significant increase in the ash amount was observed from treatment CII. The energy value of CC treatment (without the fat substitution) was of the order of 422.07 kcal /100g and for CIII treatment (with 30 % fat substitution) was of 397.7 kcal/100g, occurring reduction of the energy value by about 6 %.

Table 3. Proximate composition and energy value of cooks with fat replacement by chia mucilage.

Determination	Proximate composition(g/100g)			
	CC	CI	CII	CIII
moisture	8.65 ± 0.17 [c]	10.75 ± 0.09 [a]	9.88 ± 0.09 [b]	10.70 ± 0.06 [a]
lipids	12.55 ± 0.14 [a]	11.25 ± 0.52 [b]	10.13 ± 0.39 [c]	9.63 ± 0.09 [c]
crudeprotein	8.05 ± 0.17 [a]	8.19 ± 0.04 [a]	8.15 ± 0.12 [a]	8.19± 0.11 [a]
crudefiber	0.30 ± 0.03 [b]	0.33 ± 0.03 [b]	0.37 ± 0.05 [b]	0.47 ± 0.02 [a]
ashes	1.22 ± 0.04 [b]	1.19 ± 0.02 [b]	1.38 ± 0.02 [a]	1.44 ± 0.03 [a]
carbohydrates	69.23 ± 0.37 [a]	68.29 ± 0.60 [b]	70.09 0.44 [a]	69.57 0.20 [a]
Energy value (kcal/100g)				
Energia	422.07	407.17	404.13	397.71

CC: control cookie, CI, CII and CIII: cookies with replacement of 10, 20 and 30% of the fatty ingredient (butter) by chia mucilage, respectively. Means ± standard deviation followed by same small letters in the row do not differ from one another by the Tukey test at the significance level of 0.05.

3.6 PHYSICAL PROPERTIES OF THE COOKIES

Color is one of the characteristics that contribute to the consumer's preference in relation to the product. Table 4 shows the values for the L*, a* and b* coloration parameters and texture parameters evaluated in the cookies.

The cookies presented reduction of lightness as the amount of chia mucilage increased. Changes in the coloration parameter L* of the cookies were observed with the addition of chia mucilage, this was expected, since the freeze-dried chia mucilage showed beige coloration. With increasing mucilage concentration in the cookies, the L* values decreased significantly and, consequently, a darker coloration became more pronounced, being more intense in CIII treatment, due to its increased concentration of mucilage. Nevertheless, CII and CIII treatments did not present significant differences among each other (P> 0.05) for the L* values, as observed in Table 4.

Table 4. Coloration and texture parameters of the cookies with replacement of fat by chia mucilage.

Treatments	Coloration parameters			Texture
	L*	a *	b*	Strength (N)
CC	70.10 ± 1.01 [a]	3.54 ± 0.36 [a]	27.55 ± 0.35 [a]	47.46 ± 0.19[b]
CI	66.62 ± 1.47 [b]	3.19 ± 0.25 [a]	23.34 ± 0.84 [b]	38.74 ± 1.02[b]
CII	63.27 ± 0.72 [c]	3.83 ± 0.81 [a]	21.42 ± 1.59 [bc]	67.46 ± 1.75 [a]
CIII	62.17 ± 0.88 [c]	4.23 ± 0.24 [a]	21.01 ± 0.53 [c]	73.55 ± 0.72[a]

CC: Control cookie, CI, CII and CIII: cookies with replacement of 10, 20 and 30 % of butter by chia mucilage, respectively. Means ± standard deviation followed by the same small letters in the column do no differ from one another by the Tukey test at the significance level of 0.05.

No significant statistical differences (P>0.05) were observed for the parameter a* among the cookie formulations. The parameter b*presented reduction in the values within creasing incorporation of chia mucilage (Table 4). The CC treatment showed the highest value of b*, while the CIII treatment had the lowest average value, which presented significant differences (P<0.05). Positive value for parameter b* is related to yellow coloration, the greater the value of b* the more intense the yellow coloration. It can be observed that the biscuits of the CC treatment showed a greater tendency to yellow coloration, which may be related to the higher concentration of fat in the formulation. Reduction in the values of L* and b* with addition of chia mucilage was reported by Felisberto *et al.,* (2015).

The texture of the cookies presented significant statistical differences (P<0.05). The cookies with no fat replacement (CC) and with 10 % of replacement of butter by chia mucilage (CI) did not show any significant differences (P>0.05), with means of 47.46 N and 38.74 N. Nevertheless, when the fat ingredient (butter) of the cookies was replaced at the levels of 20 % and 30 % by chia mucilage (CII and CIII, respectively) the cookies became harder, with means of 67.46 N and 73, 55 N, respectively, with significant differences (P<0.05) in relation to CC and CI treatments. However, the cookies of the CII and CIII treatments did not present significant differences (P>0.05) among them.

In cookies and dough, fat generally works as a softening agent (MORETTO & FETT, 1999). Felisberto *et al*. (2015) observed greater firmness in cakes manufactured with fat reduction by chia mucilage in the replacement of 50 % and 75 % of fat. Santiago-García *et al*., (2017) replaced the biscuit fat by *Agave angustifolia* fructans

(soluble fibers) and found an increase in the hardness of the cookies at the concentrations of 20 and 30 g/100 gof fat replacement.

3.7 SENSORIAL ANALYSIS

The sensory evaluation scores and the results of the analysis of variance of the cookies are presented in Table 5.

Table 5. Average values of sensory acceptance and purchase intention of the cookies with fat reduction by chia mucilage.

Treatments	Scores of the sensorial analysis				
	Apperance*	Flavor*	Texture*	Overall Impression*	Purchase intention**
CC	7.48 ± 1.14 [a]	7.21 ± 1.32 [a]	7.05 ± 1.51 [a]	7.23 ± 1.20 [a]	4.02 ± 0.98 [a]
CI	6.76 ± 1.24 [b]	6.65 ± 1.25 [b]	6.22 ± 1.55 [b]	6.57 ± 1.16 [b]	3.45 ± 1.02 [b]
CII	6.56 ± 1.48 [b]	6.64 ± 1.57 [b]	6.08 ± 1.77 [b]	6.52 ± 1.56 [b]	3.39 ± 1.16 [b]
CIII	5.82 ± 1.79 [c]	5.91 ± 1.63 [c]	5.45 ± 1.72 [c]	5.68 ± 1.49 [c]	2.67 ± 1.09 [c]

CC: Control cookie, CI, CII and CIII: cookies with replacement of 10, 20 and 30 % of butter by chia mucilage, respectively. Means ± standard deviation followed by the same small letters in the column do no differ from one another by the Tukey test at the significance level of 0.05.*Scores ranging from 1 (I disliked it extremely) to 9 (I liked it extremely).** Scores ranging from 1 (I surely would not buy it) to 5 (I would surely buy it).

Although the CI and CII treatments presented significant differences (P<0.05) in relation to the control (CC) for all evaluated attributes, these two treatments presented high sensory acceptance scores that ranged from 'I liked it slightly' to 'I liked it moderately' in the hedonic scale, while the CC treatment presented scores between 'I liked it moderately' and 'I liked it very much'. Regarding the score obtained in the intention to buy test, the CC treatment presented score of 'I would probably buy it ' and the CI and CII treatments obtained scores between 'I do not know' and 'I would probably buy it'. Changes in the color, flavor, texture and overall impression of ice creams made with chia mucilage were also observed by Campos *et al*. (2016). Laguna *et al.* (2014) found that the use of 30 % of the HPMC fat replacer showed significant differences both in the appearance and color of the cookies compared to the treatments with no fat replacer with15 % inulin and 15 % HPMC, presenting the lowest sensory scores.

4. CONCLUSIONS

Chia mucilage displayed high values of solubility and water holding capacity which is desirable for the modification of the physical properties of food products and for the stabilization of emulsions and dispersions. In addition, it contributed to the

emulsion formation process by reducing the surface tension between water and oil, presenting good emulsifying activity.

Regarding the sensorial acceptance of the cookies made with fat reduction by the use of chia mucilage, maintenance of the sensory acceptance scores for the treatments with 10 % and 20 % of replacement of fat, whose scores ranged from 'I liked it slightly' to 'I liked it moderately' and for the purchase intention, scores between 'I do not know' to 'I would probably buy it' were found.

The use of chia mucilage as a fat substitute is a promising alternative to be used as a technological innovation by the food industry in the process of cookie manufacturing.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico of Brasil (CNPq), the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for the granting of financial resources.

REFERENCES

AOAC. Association of Official Analytical Chemists.**Official methods of analysis of AOAC**. 15th ed. Washington: AOAC, 1990.

AYERZA, R.; COATES, W. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). **Industrial Crops and Products***,* v. 34,p. 1366-1371, 2011.

AZEVEDO, E. C. de C.; DIAS, F. M. R. da S.; DINIZ, A. da S.; CABRAL, P. C. Consumo alimentar de risco e proteção para as doenças crônicas não transmissíveis e sua associação com a gordura corporal: um estudo com funcionários da área de saúde de uma universidade pública de Recife (PE), Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, n. 5, p. 1613–1622, 2014.

BETANCUR-ANCONA, D.; LÓPEZ-LUNA, J.; CHEL-GUERRERO, L. Comparison of the chemical composition and functional properties of *Phaseolus lunatus* prime and tailing starches. **Food Chemistry**, v. 82,p. 217-225, 2003.

BUSHWAY, A. A.; BELYEA, P. R.; BUSHWAY, R. J. Chia seed as a source of oil, polysaccharide, and protein. **Journal of Food Science**, v. 146,p. 1349-1350, 1981.

CAMPOS, B. E.; RUIVO, T. D.; SCAPIM, M. R. da S.;MADRONA, G. S.; BERGAMASCO, R. de C. Optimization of the mucilage extraction process from chia seeds and application in ice cream as a stabilizer and emulsifier. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 874-883, 2016.

CAPITANI, M. I.; CORZO-RIOS, L. J.; CHEL-GUERRERO, L. A.; BETANCUR-ANCONA, D. A.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Rheological properties of aqueous dispersions of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage. **Journal of Food Engineering**, v. 149,p. 70–77, 2015.

CAPITANI, M. I.; IXTAINA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Microstructure, chemical composition and mucilage exudation of chia (*Salvia hispanica* L.) nutlets from Argentina. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, p. 3865–3862, 2013.

CHAU, C. -F.; CHEUNG, P. C. K.; WONG, Y. -S. Functional properties of protein concentrates from three chinese indigenous legume seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 2500-2503, 1997.

COELHO, M. S.; SALAS-MELLADO, M. M. Chemical characterization of chia (*Salvia hispanica* L.) for use in food products. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 2, n. 5,p. 263-269, 2014a.

COELHO, M. S.; SALAS-MELLADO, M. M. Revisão: Composição química, propriedades funcionais e aplicações tecnológicas da semente de chia (*Salvia hispanica* L.) em alimentos. **Brazilian Journal of Food and Technology**, v. 17, n. 4, p. 259-268, 2014b.

FELISBERTO, M. H. F.; WAHANIK, A. L.; GOMES-RUFFI, C. R.; CLERICI, M. T. P. S.; CHANG, Y. K.; STEEL, C. J. Use of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage gel to reduce fat in pound cakes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63,p. 1049–1055, 2015.

FERREIRA, D. F. Sisvar: Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109–112, 2014.
KOOCHEKI, A.; KADKHODAEE, R., MORTAZAVI, S. A., SHAHIDI, F., & TAHERIAN, A. R. Influence of *Alyssum homolocarpum* seed gum on the stability and flow properties of O/W

emulsion prepared by high intensity ultrasound. **Food Hydrocolloids**, v. 23,p. 2416-2424, 2009.

LAGUNA, L.; PRIMO-MARTÍN, C.; VARRELA, P.; SALVADOR, A.; SANZ, T. HPMC and inulin as fat replacers in biscuits: Sensory and instrumental evaluation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56,p. 494-501, 2014.

LI, J.–M.; NIE, S.-P. The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. **Food Hydrocolloids**, v. 53,p. 46-61, 2016.

LINDSAY, R. C. Aditivos alimentares. In:DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.;FENNEMA, O. R. (Eds.) **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010. pp. 537-584.
LOPES, A. C.; RIBAS, M. F.; TONIAL, I. B.; LUCCHETTA, L. Aplicação de mucilagem de chia (*salvia hispânica* L.) em processamento de biscoito. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 17997-18008, 2020.

MAURO, A. K.;SILVA, V. L. M. da;FREITAS, M. C. J. Caracterização física, química e sensorial de cookies confeccionados com farinha de talo de couve (FTC) e farinha de talo de espinafre (FTE) ricas em fibra alimentar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 719–728, 2010.

MORETTO, E.; FETT, R. **Processamento e análise de biscoitos**. São Paulo: Varela, Cap. 1, 1999.

MUÑOZ, L. A.; AGUILERA, J. M.; RODRIGUEZ-TURIENZO, L.; COBOS, A.; DIAZ, O. Characterization and microstructure of films made from mucilage of *Salvia hispanica* and whey protein concentrate. **Journal of Food Engineering**, v. 111,p. 511–518, 2012.

PAREYT, B.; TALHAOUI, F.; KERCKHOFS, G.; BRIJS, K.; GOESAERT, H.; WEVERS, M.; DELCOUR, J. A. The role of sugar and fat in sugar-snap cookies: Structural and textural properties. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 400–408, 2009.

PINTADO, T.; HERRERO, A. M.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F.; RUIZ-CAPILLAS, C. Strategies for incorporation of chia (*Salvia hispanica* L.) in frankfurters as a health-promoting ingredient. **Meat Science**, v. 114, p. 75–84, 2016.

SANTIAGO-GARCÍA, P. A.; MELLADO-MOJICA, E.; LEÓN-MARTÍNEZ, F. M.; LÓPEZ, M. G. Evaluation of *Agave angustifolia* fructans as fat replacer in the cookies manufacture. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77,p. 100-109, 2017.

SEGURA-CAMPOS, M.; ACOSTA-CHI, Z.; ROSADO-RUBIO, G.; CHEL-GUERRERO, L.; BETANCUR-ANCONA, D. Whole and crushed nutlets of chia (*Salvia hispanica*) from Mexico as a source of functional gums. **Food Science Technology**, v. 34, n. 4, p. 701-709, 2014a.

SEGURA-CAMPOS, M. R.; CIAU-SOLÍS, N.; ROSADO-RUBIO, G.; CHEL-GUERRERO, L.;BETANCUR-ANCONA, D. Chemical and functional properties of chia seed (*Salvia hispanica* L.) gum. **International Journal of Food Science**,article ID 241053, 2014b.http://dx.doi.org/10.1155/2014/241053.

SENSOMAKER. SensoMaker free user-friendly interface for sensory analysis. http://www.ufla.br/sensomaker. Accessed in: dec. 15, 2016.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3th ed. Amsterdam, NL: Boston: Elsevier Academic Press, Cap. 3, 2004.

SWANSON, R. B.; MUNSAYAC, L. J. Acceptability of fruit purees in peanut butter, oatmeal, and chocolate chip reduced-fat cookies. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 3, p. 343-345, 1999.

TIMILSENA, Y. P.; ADHIKARI, R.; KASAPIS, S.; ADHIKARI, B. Molecular and functional characteristics of purified gum from Australian chia seeds. **Carbohydrate Polymers**, v. 136,p. 128–136, 2016a.

TIMILSENA, Y. P.; WANG, B.; ADHIKARI, R.; ADHIKARI, B. Preparation and characterization of chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. **Food Hydrocolloids**, v. 52,p. 554–563, 2016b.

VAN de KAMER, J. H.;VAN GINKEL, L.Rapid determination of crude fiber in cereals. **Cereal Chemistry**, v. 29, p. 239-251, 1952.

VÁZQUEZ-OVANDO, A.; ROSADO-RUBIO, G.; CHEL-GUERRERO, L.; BETANCUR-ANCONA, D. Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). **LWT- Food Science and Technology**, v. 42,p. 168–173, 2009.

VIEBKE, C.; AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G. O. Food hydrocolloids and health claims. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 4,p. 101–114, 2014.

WHO. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2010. http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_full_en.pdf. Accessed in:jan. 13, 2017.
WHO. World Health Organization. Preventing Chronic diseases a vital investment. 2005.http://www.who.int/chp/chronic_disease_report/contents/foreword.pdf. Acessed in:dec. 15, 2016.

CAPÍTULO 06

MANEJO NUTRICIONAL DE CÃES E GATOS E A INSERÇÃO DE ALIMENTOS ALTERNATIVOS NA DIETA DE PEQUENOS ANIMAIS DOMICILIADOS NO ESTADO DE RONDÔNIA, BRASIL

Denise Rufino Bragança
Acadêmica do Curso de Zootecnia
Universidade Federal de Rondônia/ Campus Presidente Médici/RO
Endereço: Rua da Paz, 4376 - Lino Alves Teixeira, Presidente Médici/RO, 76916-000
E-mail: bragancad3@gmail.com

Edicarlos Oliveira Queiroz
Docente do Departamento de Zootecnia
Universidade Federal de Rondônia/ Campus Presidente Médici/RO
Endereço: Rua da Paz, 4376, Lino Alves Teixeira, Presidente Médici/RO, 76916-000
E-mail: queirozed@unir.br

Bruna Rafaela Caetano Nunes Pazdiora
Docente do Departamento de Zootecnia
Universidade Federal de Rondônia/ Campus Presidente Médici/RO
Endereço: Rua da Paz, 4376 - Lino Alves Teixeira, Presidente Médici/RO, 76916-000
E-mail: bruna.nunes@unir.br

Raul Dirceu Pazdiora
Docente do Departamento de Zootecnia
Universidade Federal de Rondônia/ Campus Presidente Médici/RO
Endereço: Rua da Paz, 4376 - Lino Alves Teixeira, Presidente Médici/RO, 76916-000
E-mail: raul.pazdiora@unir.br

RESUMO: Os cães (*Canis lupus familiaris*) e gatos (*Felis catus*) estão presentes na sociedade humana, sendo que esse cenário é uma realidade universal. Em 2013 o Brasil ocupou o quarto lugar em maior população de pets com um total de 132,4 milhões e atualmente os lares brasileiros possuem cada vez mais um maior número de animais domésticos onde o país é o segundo maior em população de cães e gatos, sendo 52 milhões cães e 22 milhões de gatos, obtendo clara demanda sob a indústria de *pet food*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o manejo nutricional de cães e gatos e a inserção de alimentos alternativos na dieta de pequenos animais domiciliados no estado de Rondônia. Obteve-se 109 respostas, sendo que a população estudada foi composta por 68,8 % de mulheres, 28,4 % de homens e 2,8 % tutor não binário. Nas questões sobre o conhecimento básico do tutor sobre AN obteve 55,0 % das respostas para SIM, conheço a alimentação natural (AN) e 45,0 % das respostas para NÃO, já nas considerações sobre o alimento mais saudável 87,2 % dos tutores acreditam que a alimentação natural é melhor em relação a ração industrializada. A preferência do tutor em relação a alimentação do pet mostrou que 83,5 % das respostas foram para a ração seca, 17,4 % para a ração úmida, 24,8 % para sobras de alimento, 5,5 % das respostas para a alimentação natural balanceada e 25,7 % para comida caseira. Nota-se que a maioria não utiliza alimentação natural, mais gostaria de utilizar, sendo de suma importância quando o assunto é a inserção de alimentos alternativos e ainda trazer ao animal saúde e bem-estar através do alimento, nesse fator épossível que o grande problema seja a falta de oferta da alimentação

natural no comercio pet, pois existi grande aceitabilidade do produto, principalmente pelo termo natural, que vem sendo muito utilizado como fonte de saúde. A maior parte dos tutores (97,2 %) possuem hábitos alimentares onívoros, porém 33,0 % do grupo amostral acreditam que dietas vegetarianas e veganas são mais saudável e 66,1 % diz que seu pet necessita de carne. Sobre o controle de alimento ofertado diariamente ao animal 44,0 % disseram nunca pesar ou controlar a alimentação podendo ocasionar desnutrição ou obesidade no pet e ainda 53,2 % dos tutores não trocam a ração seca pela AN por falta de conhecimento no assunto. Através dos resultados aqui obtidos, pode-se perceber a importância de realizar uma conscientização dos tutores de cães e gatos sobre a necessidade do correto manejo alimentar desses pequenos animais com base nas exigências nutricionais dos pets.

PALAVRAS-CHAVES: Animais de companhia, alimentos naturais, mercado pet, ração.

ABSTRACT: Dogs (Canis lupus familiaris) and cats (Felis catus) are present in human society, and this scenariois a universal reality. In 2013 Brazil occupied the fourth place in the largest population of pets witha total of 132.4 million and currently Brazilian homes have an increasing number of domestic animals where the country is the second largest in population of dogs and cats, 52 million dogs and22 million cats, obtaining clear demand under the pet food industry. The objective of this work wasto evaluate the nutritional management of dogs and cats and the insertion of alternative foods in thediet of small animals domiciled in the state of Rondônia. 109 responses were obtained, and the population studied was composed of 68.8 % women, 28.4 % men and 2.8 % non-binary tutor. In thequestions about the tutor's basic knowledge about AN, he obtained 55.0 % of the answers to YES, Iknow the natural food (AN) and 45.0 % of the answers to NO, while in the considerations about thehealthiest food 87.2 % of the tutors believe that natural food is better than industrialized food. The tutor's preference in relation to the pet's feeding showed that 83.5 % of the answers were for dry food, 17.4% for wet food, 24.8% for leftover food, 5.5 % of responses for food. balanced natural food and 25.7% for homemade food. It is noted that most do not use natural food, but would like touse it, being of paramount importance when it comes to the insertion of alternative foods and still bring health and well-being through food, in this factor it is possible that the great problem is the lack of supply of natural food in the pet trade, as there was great acceptability of the product, mainlydue to the natural term, which has been widely used as a source of health. Most tutors (97.2 %) have omnivorous eating habits, however 33.0 % of the sample group believe that vegetarian and vegan diets are healthier and 66.1 % say that their pet needs meat. Regarding the control of food offered daily to the animal, 44.0 % said they never weighed or controlled their food, which could cause malnutrition or obesity in the pet, and 53.2 % of the tutors did not exchange dry food for AN due tolack of knowledge on the subject. Through the results obtained here, one can perceive theimportance of raising awareness among dog and cat guardians about the need for the correct feedingmanagement of these small animals based on the nutritional requirements of pets.

KEYWORDS: Pets, natural food, pet market, feed.

1. INTRODUÇÃO

A presença de cães (*Canis lupus familiaris*) e gatos (*Felis catus*) na sociedade humana é uma realidade universal, no Brasil estimou-se no ano de 2012 que 59 % da população possuem em seu domicilio animais de companhia (LIMA; LUNA, 2012). No ano de 2013 o país ocupou o quarto lugar em maior população de pets um total de 132,4 milhões, sendo um setor com grande potencialpara a economia brasileira, (ABINPET, 2013) porém esse número é maior atualmente, onde o paísé o segundo maior em população de cães e gatos, sendo 52 milhões cães e 22 milhões de gatos, obtendo clara demanda sob a indústria de *pet food* (ABINPET, 2018). Neste cenário quem ganha são as indústrias alimentícias especializadas nesta área, ao produzir cada vez mais opções para este público.

Atualmente existem diversos alimentos com nutrientes balanceados, essenciais para os animais de companhia, tais como, rações secas e úmidas, biscoitos, doces, carnes secas, patê, alimentos alternativos, entre outros (MACEDO *et al*., 2018). Nos últimos anos observou-se crescimento significativo para alimentos de cães e gatos em todos os estados brasileiros, estimado em 2,65 milhões de toneladas de alimentos destinados a esta finalidade (SINDIRAÇÕES, 2018).

Ciffoni e Pachaly (2001) afirmam que a preocupação com os animais de estimação ocorre devido ao contato direto entre os seres humanos e o afeto que se conquista um pelo outro, fazendo com que a saúde e o bem estar de cães e gatos seja o elo principal para manter esses pequenos vivospor mais tempo, sem dúvidas a alimentação é um dos principais fatores que torna possível esse quadro.

A chave principal para a manutenção da saúde de cães e gatos é a nutrição, sendo que os alimentos oferecidos aos animais domiciliados dependem apenas da preferência e atitude de cada proprietário, envolvendo também o nível socioeconômico familiar, o conhecimento sobre asexigências nutricionais desses animais e materiais informativos e/ou ajuda de um profissional capacitado na área (APTEKMANN *et al*., 2013).

O interesse na área de alimentos trouxe novas alternativas que vem ganhando o mercado de pets como a alimentação natural que abrange dietas sem produtos químicos, conservantes artificiais e sem adição de sal, providos de produtos consumidos pelo ser humano de fácil aquisição e que tenha sido apenas submetidos a um mínimo de processamento para torná-los aptos à produção *pet food* (GROOT; SCHREUDER, 2009).

Diante de diversas opções para alimentar os animais de companhia, a segurança vem sendo discutida como um fator importante para os proprietários que cada vez mais se preocupam com a saúde de seus pequenos amigos, surgindo assim no mercado pets as dietas naturais e juntamente com isso as dietas comerciais prontas para o consumo com numerosas marcas e com um nível de alta sofisticação em suas formulações (STEIFF; BAUER, 2001).

Diante do exposto referente ao mercado pets, buscou-se avaliar quais são os perfis de proprietários de cães e gatos residentes no estado de Rondônia e qual a frequência do uso de alimentos convencionais ou não convencionais correlacionadas com as influências socioeconômicas que possam auxiliar as indústrias a suprir as necessidades dos tutores, além de identificar motivações para novas tendências de mercado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no estado de Rondônia, alcançando diversas cidades do estado adquirindo dados por meio de plataforma virtual. Esta pesquisa é denominada como descritiva, abordando o qualitavo/quantitativo a partir do método de *survey* através da aplicação de um questionário virtual na plataforma Survio. O questionário foi dividido em 4 seções: (1) conhecimento básico sobre alimentação natural (2) oferta de alimento ao animal (3) hábito alimentar do tutor e a influência deste sobre a dieta do pet (4) controle do consumo de alimentos e a substituição da ração seca pela alimentação natural.

2.1 PÚBLICO ALVO

Os tutores alvo desta pesquisa foram aqueles que independente de sua renda apresentam alguma preocupação com a saúde de seu animal e buscam formas mais sofisticada ou a mais simples que possam manter o animal nutrido e na sua zona de conforto. A pesquisa ocorreu de forma virtual devido a pandemia e graças a tecnologia que temos. O estudo tem fins apenas de pesquisa e não divulgação de dados pessoais.

2.2 ITENS DO QUESTIONÁRIO

O trabalho dispôs de 8 perguntas sendo distribuídas 2 questões para cada seção, com o objetivo de avaliar os hábitos alimentar do tutor a influência sobre a alimentação de seus animais, quais são os alimentos ofertados em maior frequência aos animais, obter informações sobre a preocupação com a dieta oferecida aos

animais quanto ao grau de conhecimento sobre a importância da nutrição para a saúde dos pets e a disponibilidade em adotar uma dieta natural para cães e gatos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidas 109 respostas, sendo que a amostra populacional avaliada foi composta por 68,8 % de mulheres (75 respostas), 28,4 % de homens (31 respostas) e 2,8 % (3 respostas) tutor não binário. Em uma pesquisa realizada por Gouvêa (2019) verificou-seque tutores de cães e gatos a nível Brasil, onde de 434 respostas obtidas, 379 foram respondidas pelo sexo feminino (87 %), 54 pelo sexo masculino (12 %) e 1 tutor não binário(0,2 %). A partir desses dados observa-se que mulheres possuem mais animais domiciliados que homens.

Tabela 1- Conhecimento básico sobre alimentação natural.

Você conhece ou já	**ouviu falar em alimentação**	**natural**
ALTERNATIVAS	**OCORRÊNCIAS**	**PROPORÇÃO %**
Sim	60	55,0
Não	49	45,0
Você considera a alimentação	**natural mais saudável que**	**rações industrializadas**
ALTERNATIVAS	**OCORRÊNCIAS**	**PROPORÇÃO %**
Sim	95	87,2
Não	14	12,8

Fonte: Os Autores.

Na tabela 1 pode-se observar que a porcentagem de tutores que conhecem e que desconhecem a alimentação natural são números bem aproximados, sabemos como as informações hoje sobre os cuidados com os pets estão cada vez mais presentes e com fácil acesso, tornando a internet um dos principais meios de informação, como a alimentação é tendência no mercado *pet food* está presente nesses sistemas de Market. Nessa questão obteve 60 respostas para SIM, conheçoa alimentação natural (55,0 %) e 49 respostas para NÃO, não conheço alimentação natural (45,0 %). A população ainda precisa se informar sobre as opções de alimentação existente no mercado pois quase a metade do grupo amostral ainda não ouviu falar em alimentação natural, por mais que a mesma ainda esteja chegando no estado.

Nota-se que por mais que algumas pessoas preferem a ração seca pela praticidade, o tutor acredita que a alimentação natural é mais saudável que rações

industrializadas, sendo que dos 109 participantes 95 indivíduos disseram que SIM (87,2 %) e apenas 14 acreditam que NÃO (12,8 %). No presente estudo foi questionado qual era a visão do tutor em relação a dieta mais saudável, e 87,2 % dos tutores consideram que a alimentação natural é melhor em comparação com as rações comerciais. A preferência por alimentos que os tutores encontram em sua própria dieta, para seus pets vem ganhando o mercado *pet food*, esse comportamento está associado ao antropomorfismo de cães e gatos (BUFF, 2014). Pinto (2018) realizou uma pesquisa com 174 tutores de animais de companhia, e obteve um resultado de 44,2 % de tutores que informaram que a ideia de fazer o aniversário para o animal seria interessante e criativa, sendo um modo de introdução de alimentos naturais que podem ser utilizados como petiscos.

Tabela 2- oferta de alimento ao animal.

Qual a alimentação	**ofertada ao animal**	
ALTERNATIVAS	**OCORRÊNCIAS**	**PROPORÇÃO%**
Ração seca	91	83,5
Ração úmida	19	17,4
Sobras de alimentos	27	24,8
Alimentação natural balanceada	6	5,5
Comida caseira	28	25,7
Você utiliza a	**alimentação natural**	
ALTERNATIVAS	**OCORRÊNCIAS**	**PROPORÇÃO %**
Sim	9	8,3
Não, mais gostaria	59	54,1
Não, mais já utilizei	7	6,4
Não, prefiro ração seca tradicional	34	31,2

Fonte: Os Autores.

A tabela 2 demonstra um dado importante nessa pesquisa, como se pode notar a maioria dos tutores ofertam ração seca, o que não surpreende por ser o mais prático no dia a dia, porém como vimos na literatura pode não ser o mais saudável ao animal, o fator importante aqui não é o mais usado pelos tutores, mais sim o menos usado que é a alimentação natural balanceada, isso por que é uma tendência de mercado que vem crescendo muito na região Sul, Sudeste e Nordeste e a nossa região Norte está começando agora a entrar nesse mercado de alimentos, então podemos dizer que é novo para o estado de Rondônia e que essa área tem muito a crescer, para isso tem uma demanda por profissionais capacitados na área de nutrição pet podendo tornar uma realidade em nosso estado. Para esse questionário os tutores poderiam

também marcar mais de uma alternativa por exemplo: se o caso ofertam ração seca e sobras de alimento. Os dados mostraram que 91 das respostas foram para a ração seca (83,5 %), 19 para a ração úmida (17,4 %), 27 para sobras de alimento (24,8 %), 6 respostas para a alimentação natural balanceada (5,5 %) e 28 para comida caseira (25,7 %). De acordo com Case, (2011) alimentos secos têm demonstrado grandes vantagens ao longo dos anos, tais como a segurança alimentar, maior vida de prateleira, compra em maior quantidade e podem oferecer vantagens na higiene oral devido a maior mastigação, evitando os acúmulos de placas bacterianas. Em contra partida a alimentação natural tem mudado o olhar sob a nutrição de cães e gatos, isso ocorre pela participação que esses animais tem na vida do ser humano, aumentando a demanda por uma alimentação que traga mais longevidade, saúde, qualidade de vida aos animais de companhia (CARCIOFI; JEREMIAS, 2010).

Essa informação é muito importante para esse estudo pois nota-se que a maioria não utiliza alimentação natural (AN), mais gostaria de utilizar. É possível que o grande problema seja a falta de oferta da alimentação natural no comercio pet, pois existi grande aceitabilidade do produto, principalmente pelo termo natural, que vem sendo muito utilizado como fonte de saúde. Nessa pergunta do questionário 9 pessoas responderam que utilizam a AN (8,3 %) e a maioria em um total de 59 pessoas responderam não, mais gostaria de utilizar (54,1 %), 7 pessoas responderam não, maisjá utilizei (6,4 %) e 34 pessoas disseram preferir a ração seca (31,2 %). Uma pesquisa buscou avaliaro mercado de alimentação natural em Recife, e alcançou 95 entrevistados que fazem parte dos consumidores de produtos pet, nessa analise obteve-se apenas 8 % dos interrogados que disseram que não pagaria a mais por obter um alimento mais adequado, saudável e natural, sendo que 92 % pagaria 10 % ou mais do valor da ração comercial para adquirir um alimento natural para seu animal de companhia (MOURA, 2017).

Tabela 3: hábito alimentar do tutor e a influência deste sobre a dieta do pet.

HÁBITO ALIMENTAR DO TUTOR	OCORRÊNCIA	PROPORÇÃO %
Onívoro	106	97,2
Vegetariano	2	1,8
Vegano	1	0,9
Você acredita que seu	**animal deve se alimentar de vegetarianas**	**dietas veganas ou**
ALTERNATIVAS	**OCORRÊNCIAS**	**PROPORÇÃO %**
Sim, ele deve apenas ingerir vegetais	1	0,9
Sim, sou vegetariano e o alimento igualmente	0	0
Sim, sou vegano e o alimento igualmente	0	0
Sim, acredito ser mais saudável	36	33,0
Não, eles são carnívoros e necessitam de carne	72	66,1

Fonte: Os Autores.

A maior parte da amostra consome produtos de origem animal, sendo que a menor parcela ficou para os tutores que possuem o habito alimentar vegano (não consomem nada que tenha origem animal), e para os vegetarianos com 2 respostas, ficou como intermediário (não comem carne, peixee aves). Uma pesquisa realizada com tutores de cães e gatos mostra que 89 % dos tutores são onívoros (GOUVÊA, 2019), já voltada a pesquisa para o estado de Rondônia pode se notar que é maior esse total, sendo 97,2 % de tutores onívoros.

Pode-se observar que a maior parte dos tutores percebem que cães e gatos são carnívoros e acreditam que ele devem consumir carne, apesar que uma boa parte desse grupo amostral acredita que dietas veganas e vegetarianas são mais saudáveis aos pets, porem apenas uma pessoa disse que seu animal de companhia deve apenas ingerir vegetais. É importante constatar que nem um indivíduo acredita que o animal deve ingerir dietas veganas ou vegetarianas porque o seu habito alimentar é esse. Relembrando que os gatos são carnívoros obrigatórios e os cães são carnívoros não obrigatórios, ou seja, eles se adaptaram ao longo dos anos a uma dieta onívora, e isso ocorreu por ingerir restos de comida que sobravam nos pratos humanos. A maior preocupação para as dietas vegetarianas e veganas são alguns nutrientes específicos como a taurina, vitamina A, vitamina B12 e ácido araquidônico, por serem nutrientes encontrados em tecido animal, por isso, tutores que desejam alimentar cães e gatos com essas dietas, devem tomar o devido cuidado e selecionar os alimentos, mantendo os exames sanguíneos em dias para monitorar o nível de nutrientes

essenciais no sangue (CASE, 2011). Ainda para Case (2011) estas dietas devem ser suplementadas, sendo que para cães é mais fácil balancear a alimentação com os nutrientes necessários, do que para gatos, que são carnívoros estritos.

Tabela 4- controle do consumo de alimentos e a substituição da ração seca pela alimentação natural.

O consumo de alimentos	**pelos animais é controlado**	**ou pesado**
ALTERNATIVAS	**OCORRÊNCIAS**	**PROPORÇÃO %**
Sempre	31	28,5
As vezes	30	27,5
Nunca	48	44,0
Qual o fator que influenciaria	**você a substituir a ração seca natural**	**pela alimentação**
ALTERNATIVAS	**OCORRÊNCIAS**	**PROPORÇÃO %**
A qualidade de vida e maior longevidade para me pet	51	46,8
Não sei por falta de conhecimento no assunto	58	53,2

Fonte: Os Autores.

A questão 1 da tabela 4 se trata do controle de alimento ofertado diariamente, sendo um dos principais fatores que podem causar a obesidade ou desnutrição, percebe que a maioria dos tutores que participaram da pesquisa nunca realiza esse controle da quantidade de alimentos ou até mesmo não sabem como fazer esse controle, e a menor parte do grupo controla a alimentação do seu animal de companhia.

Na questão 2 trata-se da opinião do tutor em relação a substituição da ração seca pela alimentação natural (AN), e os resultados são próximos pois 46,8 % dos tutores trocaria a alimentação do pet visando maior saúde e qualidade de vida e já 53,2 % dos tutores dizem não ter conhecimento sobre esse assunto.

4. CONCLUSÕES

Foi observado a importância de realizar uma conscientização dos tutores de cães e gatos sobre a necessidade do correto manejo alimentar desses pequenos animais com base nas exigências nutricionais dos pets domiciliados no estado de Rondônia. É importante que o tutor esteja mais atento aos seus animais e as suas necessidades, pois nesse estudo vemos que o conhecimento sobre a nutrição e cuidados necessários com os pets é bem escasso. As responsabilidades de ter animais domiciliados são muitas, e se o conhecimento for insuficiente sobre o assunto, deve-se pesquisar e sempre consultar um profissional para manter a saúde e o bem-estar dos animais de companhia.

REFERÊNCIAS

ABINPET. Perfil Pet Food. Associação Brasileira de Indústrias de Produtos para Animais de Estimação, Mercado Pet 2013. Disponível em: <http://abinpet.org.br/mercado/> acesso : 16 de fev. 2020.

ABINPET. Dados de Mercado, 2018. Disponível em: < http://abinpet.org.br/mercado/#>. Acesso em: 02 de fevereiro, 2020.

APTEKMANN, K. P. *et al.* Manejo nutricional de cães e gatos domiciliados no estado do Espírito Santo – Brasil. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 65, n. 2, p. 455-459, 2013.

BUFF, P. R. et al. Natural pet food: A review of natural diets and their impact on canine and felinephysiology. Journal of animal science, v. 92, n. 9, p. 3781-3791, 2014.

CASE, L. P. *et al.* Canine and Feline Nutrition. Mosby, 2011.

CARCIOFI, A. C.; JEREMIAS, J. T. Progresso científico sobre nutrição de animais de companhiana primeira década do século XXI. Revista Brasileira Zootecnia, v.39, p.35-41, 2010.

CIFFONI, E. M. G.; PACHALY, J. R. Considerações históricas e legais sobre a odontologia veterinária no Brasil. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar, Umuarama, v. 4, p.49-54, 2001.

GOUVÊA, F. L. Alimentos convencionais e a tendência a alimentos alternativos para animais de companhia Uma visão sobre o perfil de tutores e a escolha de alimentos para cães e gatos. Porto Alegre, 2019.

GROOT, J.; SHREUDER, W. Biological, naturally logical. Amsterdam: AFB International, 2009. Disponível em: <www.afbinternational.com/images/upload/ biological,%20naturally% 20logical.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2020.

LIMA A. F. M.;LUNA S. P. L. Algumas causas e consequências da superpopulação canina e felina:acaso ou descaso? / Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / v. 10, n. 1, p. 32–38, 2012.

MACEDO, H. T. *et al.* Alimentos não convencionais para cães e gatos. In: BALIEIRO, J. C. C. et al. Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal. Pirassununga: 5D, p. 90, 2018.

MOURA, M. O comércio de alimentos naturais pet em recife.2017 (graduação| monografia) Portalde Trabalhos Acadêmicos, v. 1, n. 1, 2017.

PINTO, N. Bem-estar animal: relação homem-animal no conceito da humanização de animais. Centro Universitário de Formiga. 2018 (Trabalho de Conclusão) Unifor MG SINDIRAÇÕES. Boletim Informativo do Setor Dezembro/2018. São Paulo: Sindirações, 2018. Disponível em: https://bit. ly/2QA2tnV. Acesso em: 25 set. 2019.

STEIFF, E.L.; BAUER, J.E. Nutritional adequacy of diets formulated for companion animals. Journal of the American Veterinary Medical Association, v.219, n.5, p.601-604, 2001.

CAPÍTULO 07

ANÁLISE PRODUTIVA DE DOIS PERÍODOS DE SAFRA DO MARACUJAZEIRO AZEDO (*PASSIFLORAEDULIS* SIMS) NO ESTADO DE RONDÔNIA

Vanessa Gomes Dias
Acadêmica do curso de agronomia Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná
E-mail: Vanessa18_farmacia@hotmail.com

Kátia Daiane Gomes Dias
Bacharel em Engenharia Agronômica Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná
Instituição: Casal Distribuidora
Endereço: Av. Clóvis Arraes, 962, Bairro Urupá-Ji-Paraná, Rondônia, CEP: 76900-209.
E-mail: Katia_ferrare@hotmail.com

Celso Pereira de Oliveira
Mestre em Olericultura
Instituto Federal Goiano campus Morrinhos Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná
Endereço: Av. Engenheiro Manfredo Barata Almeida da Fonseca, 542, Bairro Jardim Aurélio Bernardes – Ji-Paraná, Rondônia, CEP: 76907-524
E-mail: Celsoagrogeo@hotmail.com

Edemar Menegaz Filho
Bacharel em Engenharia Agronômica
Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná (CEUJI/ULBRA)
E-mail: Edemarmenegazfilho@hotmail.com

RESUMO: O maracujazeiro azedo apresenta uma vasta disponibilidade de uso, entretanto devido seu alto custo de produção, mapear fatores e períodos que influenciam na produtividade e qualidade do fruto, são fundamentais. Desta forma o objetivo deste trabalho é avaliar a produtividade e qualidade do fruto do maracujazeiro azedo em função de diferentes épocas de colheita ao longo de diferentes períodos de safra. A pesquisa foi conduzida no município de Presidente Médici, no estado de Rondônia, utilizando 2 períodos de safra em função de 2 áreas, como tratamento. Estes períodos de safra foram compostos por 13 repetições por tratamento e 5 variáveis. O delineamento experimental foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC). As variáveis avaliadas foram Peso de frutos (PF), período médio de colheita (PMC), porcentagem de frutos cortados (%FC), porcentagem de perca (%PC) e Sólidos solúveis (ºBrix). A análise estatística foi submetida ao teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Obtendo-se que as safras durante o primeiro ano de plantio não apresentaram diferença significativa na produtividade, afetando somente a quantidade de frutos viáveis e a quantidade de perca. A qualidade do fruto em relação à quantidade de sólidos solúveis não foi influenciada em relação aos dois períodos de safra.

PALAVRAS-CHAVE: Produtividade, Colheita, Perca de frutos, Sólidos solúveis.

ABSTRACT: The sour passion fruit has a wide availability of use, however due to its high production cost, mapping factors and periods that influence fruit productivity and quality are essential. In this way the objectiveof this work is to evaluate the productivity and quality of the fruit of the sour passion fruit in functionof different harvest times over different periods of harvest. The research was conducted in the municipality of Presidente Médici, in the state of Rondônia, using 2 harvest periods depending on 2 areas, as treatment. These harvest periods were composed of 13 repetitions per treatment and 5 variables. The experimental design was conducted in a completely randomized design (DIC). The variables evaluated were fruit weight (PF), average harvest period (PMC), percentage of cut fruit (%FC), percentage of loss (% PC) and soluble solids (ºBrix). The statistical analysis was subjected to the Tukey test at 5 % probability. Obtaining that the harvests during the first year of planting do not dissipate difference in productivity, affecting only the amount of viable fruits and the amount of loss. The quality of the fruit in relation to the quantity of soluble solids was not influenced in relation to the two harvest periods.

KEYWORDS: Productivity, Harvest, Fruit loss, Soluble solids.

1. INTRODUÇÃO

A palavra maracujá é de origem tupi, que significa alimento em forma de cuia. O maracujazeiro pertence à família Passifloraceae, composta por 18 gêneros e cerca de 630 espécies, amplamente difundida em regiões tropicais e temperadas. O gênero *Passiflora* é o de maior importância econômica, sendo composta por 129 espécies, 83 endêmicas do Brasil (CERVI *et al*., 2010).

Por se tratar de uma planta de clima tropical e subtropical o maracujá azedo é amplamente cultivado no mundo, os principais produtores são Brasil, Colômbia, Equador e Peru (SANTOS, 2016). O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá, estima-se que em 2012, quando os plantios retomaram crescimento, o pais contou com 61,63 mil hectares colhidos com produtividade média de 14,97 toneladas por hectare ano (IBGE, 2012).

A região norte do pais é responsável por uma produção média de 38.309 toneladas de maracujá e produtividade média de 11,32 toneladas de maracujá por hectare. Em Rondônia a produção de maracujazeiro está distribuída em aproximadamente 359 hectares com produtividade média de 9,87 toneladas por hectare, movimentando a economia de quase todo o estado (EMBRAPA, 2019).

As cultivares de maracujá mais cultivadas em Rondônia são as regionais oriundas de seleção feita pelos produtores, selecionando frutos produtivos da própria lavoura, seguidas de cultivares melhoradas geneticamente, bem como as cultivares FB 200 Yellow Master e FB 300 Araguari, Scs 437 Catarina, BRS Gigante Amarelo, BRS Sol do Cerrado, BRS Ouro Vermelho, BRS Rubi do Cerrado, entre outras (CUNHA, 2013).

O maracujazeiro quando manejado de acordo com sua necessidade fisiológica pode resultar em um período de colheita estendido e distribuído ao longo do ciclo produtivo, este pode variar entre 6 meses a 12 meses, variando de acordo com o clima da região. A planta pode se manter produtiva até 3 anos de idade, entretanto tende a reduzir seu potencial (NETO *et al.,* 2015).

A alguns fatores que pode vir a influenciar significativamente a produtividade do maracujazeiro é a incidência de pragas, oscilando de acordo com o período do ano. Há espécies que aumentam sua infestação em períodos específicos, reduzindo a área fotossintética da planta, abortando flores e frutos, podendo ainda ocasionar lesões no caule e raiz, apresentando a importânciada escolha correta de variedades tolerantes para região (OLIVEIRO e FRIZZAS, 2014).

Segundo Aular *et al*. (2014) a ação do clima, características e fertilidade do solo, manejo de adubação e irrigação se relacionam diretamente com a produtividade do maracujazeiro. Entre outros fatores que possam vir a afetar a produtividade e qualidade dos frutos, são número de frutos, peso, ou ainda diâmetro dos frutos, rendimento de poupa e espessura de casca, desta forma deve-se utilizar cultivares com maiores índices reprodutivos (SANTOS, 2015).

Existem alguns fatores que definem a qualidade do fruto de maracujá e agregam o valor ao fruto, entre estes se encontra o º Brix, que representa a quantidade de sólidos solúveis na poupa do fruto, este sólido nada mais é que o açúcar total, podendo ser ele a sacarose, frutose entre outros. O maracujá azedo possui um ºBrix em torno de 4º a 16º variando em função da cultivar, considera-se em nível de maturação e doçura ideal (NUNES e SILVA, 2013; ANDRADE *et al*., 2013).

Devido ao custo de produção do maracujazeiro azedo ser significativamente elevado, mapear fatores e períodos que influenciam na produtividade e qualidade do fruto, são fundamentais para manter a viabilidade da produção e garantir o retorno financeiro para o agricultor, além de prepara- lo para evitar e contornar possíveis situações adversas (FALEIRO; JUNQUEIRA, 2016).

Desta forma o objetivo deste trabalho é avaliar a produtividade e qualidade do fruto do maracujazeiro azedo em função de diferentes épocas de colheita ao longo de diferentes períodos de safra.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado em uma lavoura de maracujá localizada no município de Presidente Médici, Rondônia. Situado nas coordenadas 11° 08' 48" S e 61° 53' 50" O (IBGE, 2019). O município se encontra a uma altitude de 185 metros sobre o nível do mar e se apresenta enquadrado em classificação climática do tipo equatorial quente e úmido, com temperatura média entre 20 a 36ºC e precipitação na faixa de 1.400 e 2.500 milímetros por ano (SEDAM, 2008).

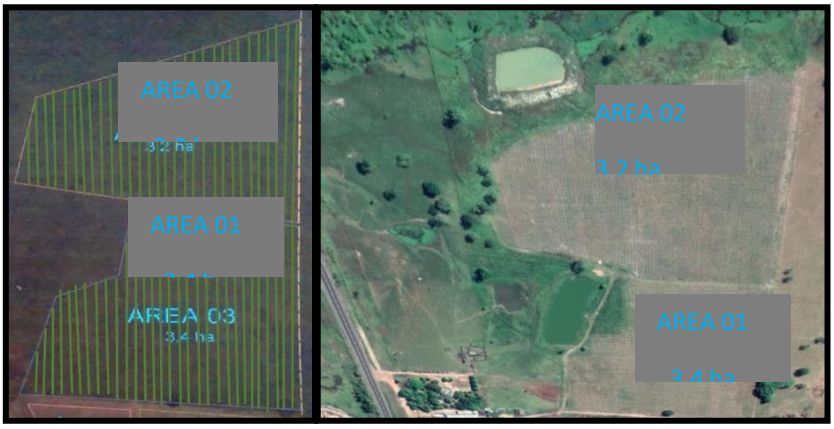
A implantação da área experimental ocorreu no ano de 2019, dividindo-a em duas lavouras, conduzidas por produtores diferentes, as áreas apresentam 3,2 e 3,4 hectares respectivamente. Ambos possuem 2500 plantas, ou seja, cerca de 781 plantas por hectare, plantadas em espaçamento de 3 metros entre linhas e 4 metros entre plantas, contando com aproximadamente 40 ruas e 62 plantas por rua, oscilando em função da irregularidade do terreno, levando em consideração Junior *et al*. 2012.

Desta forma o delineamento experimental foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, apresentando colheita uniforme na lavoura experimental. Segundo Duart (2020) o DIC ou experimento inteiramente ao acaso pode ser utilizado em situações em que o material seja semelhante e se apresente em condições uniformes.

Os tratamentos foram divididos da seguinte forma: duas áreas de tratamento conduzidas por produtores diferente, em função de 2 períodos de safra, período de dezembro de 2019 a janeiro de 2020 e março a abril de 2020 para ambas as áreas, estes períodos de safra foram compostos por 13 repetições por tratamento e 5 variáveis.

A irrigação do local é do tipo microjet com vazão estipulada em 27 litros por hora, irrigada separadamente por fontes de irrigação independentes e tanques distanciados, contando com caixas para ferti-irrigação.

Figura 01: Imagem das áreas de colheita de frutos de maracujá azedo na cidade de Presidente Médici, RO.



Fonte: Google Earth Pro (2019).

As amostras de solo foram coletadas aleatoriamente ao longo da área experimental em profundidade de 0-20 e de 20-40 centímetros, coletando-se 30 amostras simples, homogeneizando e retirando uma amostra composta para cada profundidade analisada, identificando e colocando-as para secar a sombra, posteriormente encaminhando ao laboratório de solos (ROSSETTO E SANTIAGO, 2006).

Para preparo do solo, a camada superior foi revolvida por meio de uma gradagem, posteriormente foi realizada a calagem com 1,2 toneladas de calcário para ambas as áreas, cerca de 600 Kg por área, em área total, seguindo de uma segunda

mão de grade para incorporar o calcário nosolo, levando em consideração o manual: Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais, 5ª aproximação (RIBEIRO *et al*., 1999).

A adubação de plantio foi realizada na cova, essa perfurada com perfurador mecânico com aproximadamente 30 centímetros de largura e 60 centímetros de profundidade. A adubação contou com 300 gramas de superfosfato triplo na cova 20 dias antes do plantio. As demais adubações foram realizadas em cobertura parceladas a cada 15 dias.

As mudas utilizadas oriundas de sementes da cultivar Santa Catarina linha da Flora Brasil Sementes, foram semeadas em copos plásticos 2 sementes por copo semeadas a aproximadamente 1 centímetro de profundidade. Estas foram transplantadas a campo após apresentarem-se com cerca de14 a 30 centímetros de altura, geralmente entre 40 a 70 dias após semeadura (GONTIJO, 2017).

A adubação e o controle de pragas foram realizados de acordo com a demanda nutricional e sanitária da planta, sendo as adubações feitas a cada 15 dias em aplicação foliar, via solo e ferti irrigação, já o controle de pragas e doenças foram realizados via aplicação tratorizada utilizando produtos registrados para a cultura.

Os dados foram coletados da seguinte forma, após o período de maturação dos frutos, estes foram coletados no ponto de colheita, ou seja, quando os frutos apresentaram 65 % da casca com coloração amarela ou ainda frutos caídos ao solo, seguindo os padrões de Silva *et al*. (2005). Os frutos colhidos foram colocados em caixas de PVC, próprio para o transporte de frutos, então encaminhados para o salão de recepção onde foram pesados, desinfestados com hipoclorito de sódio a 5 %, posteriormente separados os frutos com danos dos frutos sadios (REIS *et al*., 2007).

Após a seleção dos frutos, os frutos com perca foram realocados em caixas para quantificar a perca, posteriormente foram encaminhados para a área de descarte. Já os frutos saudáveis foram cortados e analisados qualitativamente.

Foram analisadas as seguintes variáveis: Peso de frutos em Kg (PF), período médio de colheita por área em relação aos meses avaliados (PMC), porcentagem de frutos cortados (%FC), porcentagemde perca (%PC) e ºBrix (ºBX).

Para obter-se o peso médio dos frutos coletados por dia, foi utilizada uma balança industrial com capacidade para 300 kg, em que as caixas serão empilhadas em dezenas, anotando-se o peso, ao final de cada pesagem foi descontado 2,8 Kg referente ao peso das caixas (GRIGOLO *et al.,* 2018).

Para obter-se o período médio de colheita por área em relação aos meses avaliados (PMC), foi feito o cálculo de acordo com a metodologia de Maio, (2014):

PRMC= ND/MÊS÷ NS

Em que:

PRMC, Referindo-se ao Período médio de colheita;

ND, Corresponde ao Número de dias;

NS, Representando o Número de semanas

A porcentagem de frutos cortados foi contabilizada durante o momento da recepção dos frutos selecionados, bem como a porcentagem de perca levando em conta Cenci *et al.* (1997). Utilizando aseguinte fórmula:

%FC= Frutos cortados x 100Frutos totais

A porcentagem de perca foi calculada conforme a formula anterior, onde:

%PC= Frutos injuriados x 100Frutos totais

A obtenção do ºBrix consistiu na coleta do sulco da poupa dos frutos do lote obtido no dia, sem diluição em água, com auxilio de um refratômetro da marca ATC, numeração RSG-100 ATC. Com aparelho devidamente calibrado, pingou-se duas gotas do suco sobre o prisma com auxílio de uma pipeta, fechando-o posteriormente, observando a marcação entre a área iluminada e a área escura, anotando os valores. Os resultados não foram submetidos ao reajuste do ácido, pois foi avaliado em temperatura controlada de 20ºC (OCDE, 2006).

Estes processos foram repetidos durante cada recepção de frutos obtidos entre 1 a 3 vezes na semana durante todo o período de colheita. Sendo contabilizado e anotado para o posterior processamento dos dados.

A análise estatística foi submetida ao teste de análise de variância (ANOVA), após constatada diferença estatística este foi submetido ao teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUÇÃO

A tabela a seguir (Tabela 1) demonstra que houve apenas significância estatística em relaçãoa área avaliada, para as variáveis porcentagem de frutos cortados (%PC), porcentagem de perca (%PC) e sólidos solúveis (ºBrix), apresentando significância de *p*>0,05. A variável peso de frutos obtidos por colheita (PF) expressos em Kg, bem como a avaliação em comparação entre as áreas de plantio e a interação entre área versus ano não demonstraram diferença significativa.

Tabela 1: Análise de variância (ANOVA) para o teste de dados quantitativos referentes à análise produtiva de dois períodos de safra do maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis Sims*) no estado de Rondônia.

		TESTE F			
Causa de variação	GL	PF	%FC	%PC	ºBrix
Área	1	0,59^{NS}	4,49*	4,46*	4,18*
Plantio	1	1,89 ^{NS}	3,86^{NS}	3,76 ^{NS}	0,004 ^{NS}
Área*Plantio	1	0.40 ^{NS}	0,85^{NS}	0,83 ^{NS}	0,147 ^{NS}
Erro	48				
Total corrigido	51				
CV (%)		101,88	0,69	23.21	3,64
Média Geral		1254.08	97,13	2,85	11,91

*Significantemente a 5 % de variação pelo teste F; ^{NS} não significantemente pelo teste F; GL = grau de liberdade; CV= Coeficiente de variação. Teste deTukey. **PF-** Peso de frutos recebidos por colheita, **%FC-** Porcentagem de frutos cortados, **%PC-** Porcentagem de percas, **ºBrix-** Sólidos solúveis, **PMC-**Período médio de colheita mensal.

De acordo com a tabela a seguir (Tabela 2) é possível observar que em relação ao peso de frutos obtidos em ambas áreas bem como em ambos os anos assim como o ºBrix, não demonstraram diferença significativa. Por outro lado, a variável porcentagem de frutos cortados (%FC) demonstrou-se superior estatisticamente para a área 1 no ano de 2020 e área 2 em ambos anos, a porcentagem de perca (%PC) demonstrou-se estatisticamente superior para o ano de 2019 na área 1, não diferindo-se entre os períodos de avaliação para área 2 e área 1 2020.

Tabela 2: Dados quantitativos referentes ao peso de frutos por colheita em Kg (PF), Porcentagem de frutos Colhidos (%FC), Porcentagem de perca de frutos (%PC), Sólidos solúveis (ºBrix), obtidos através de à análise produtiva de dois períodos de safra do maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis Sims*) no estado de Rondônia. Presidente Médici. RO. Safra de 2019/2020.

VARIÁVEIS				
TRATAMENTOS	PF^{Kg}	%FC	%PC	ºBrix
A1 2019	1032 A	96,67 B	3,31 A	11,81 A
A1 2020	1745 A	97,23 A	2,79 B	11,77 A
A2 2019	987 A	97,20 A	2,79 B	12,01 A
A2 2020	1251 A	97,42 A	2,57 B	12,06 A
CV %	101,88	0,69	23.21	3,64

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente à nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Em relação à produtividade do maracujazeiro azedo observa-se tendência ao aumento gradativo da produção de frutos até o segundo ano de colheita onde expressa seu maior potencial produtivo, havendo posterior queda e encerramento do ciclo produtivo no seu terceiro ano, quando cultivado em áreas tropicais ou com condições ideais e ausência de geadas (STENZEL *et al*., 2019).

Desta forma, possivelmente por se apresentar ainda no primeiro ano de ciclo produtivo o peso de frutos obtidas por colheita (PF), presente na (Tabela 2) não apresentou diferença estatística em relação as áreas e aos períodos avaliados. Entretanto a porcentagem de frutos cortados por colheita (%FC) e porcentagem de perca (%PC) apresentaram diferença estatística se comparada as áreas 1 e 2 respectivamente, demonstrando que a área 1 em 2019 resultou menos frutos cortados e maiores percas se comparado a 2020 e a área 2 na safra de 2019 e de 2020.

Melo *et al*. (2001) descreve que ao avaliar diferentes cultivares em três anos de safra obteve que o segundo ano apresentou melhores resultados produtivos devido a maior formação vegetal e a influencia de melhores condições climáticas oferecidas no segundo ano de avaliação.

Existem diversos fatores que podem resultar em menores quantidades de frutos cortados, frutos aptos ao processamento, dentre esses encontra-se a porcentagem de perca de frutos por danos de pragas ou doenças, queimaduras ocasionadas pelo sol, deficiência nutricional bem como a deficiência de cálcio, ou viroses que ocasionam

a murcha e abortamento do fruto, até mesmo abscisãode flores não fecundadas ou contaminadas pelo mofo branco (SENHOR *et al*., 2009).

Desta forma mesmo que haja uma boa floração, os frutos permaneçam na planta mãe até o momento de colheita, isento de ataque de pragas ou doenças, se colhido após cair ao chão, apresentar algum dano mecânico ou ainda ficar na lavoura exposto a intempéries e demorar ser encaminhado aolocal de armazenamento pode ainda resultar em perca desses frutos por lesões na casca e dano na poupa inviabilizando-o (SILVA *et al*., 2008).

Relacionando aos fatores que ocasionam as percas dos frutos e reduzem a porcentagem de frutos cortados, nota-se na Tabela 2 que a porcentagem de perca (%PC) obtida é proporcional a menor quantidade de frutos cortados, sendo assim, a área 1 no ano de 2019 apresentou-se com maiores percas se comparado 2020 ou a área 2.

Neste caso a maior porcentagem de perca resultante da colheita do período de dezembro de 2019 a janeiro de 2020 ocorreu em função do período de colheita, queimaduras pelo sol dos frutos ainda na planta mãe, sendo infectado por fungos saprofíticos alimentando-se dos tecidos mortos do fruto e resultando no comprometimento da poupa.

Outro fator importante foi à incidência de percevejos na lavoura, perfurando o epicarpo e mesocarpo do fruto, resultado em infecções de parasitas saprofíticos como o *Aspergillus niger* ou ainda por esporos de fungos presentes na lavoura bem como a antracnose ocasionada pelo agente causal (*Colletotrichum gloeosporioides*) e a cercosporiose no maracujá ou mancha de cercospora causada pelo fungo (*Cercospora passiflorae*), resultando na deterioração e descarte do fruto (LAZIA, 2012).

Fator que pode resultar nesta diferença de perca por ataque de pragas pode ser o manejo de pragas e doenças, desta forma a flutuação de população de uma área para a outra pode ocorrer devidoo período de aplicação de defensivos em aplicação curativa e preventiva, quando se á uma infestaçãoem uma área vizinha é necessário que a área próxima se previna com uma aplicação preventiva eliminando a praga da área, fator ao qual pode ter reduzido à porcentagem de perca na safra do ano posterior (ÁVILA *et al*., 2009).

Petry, (2017) descreve que para evitar redução dos danos e perca de frutos, deve-se realizar colheitas continuas e evitar danos mecânicos durante o processo a fim de reduzir o apodrecimento e desidratação dos frutos. Os frutos danificados não

servem para comercialização devendo estes serem descartados.

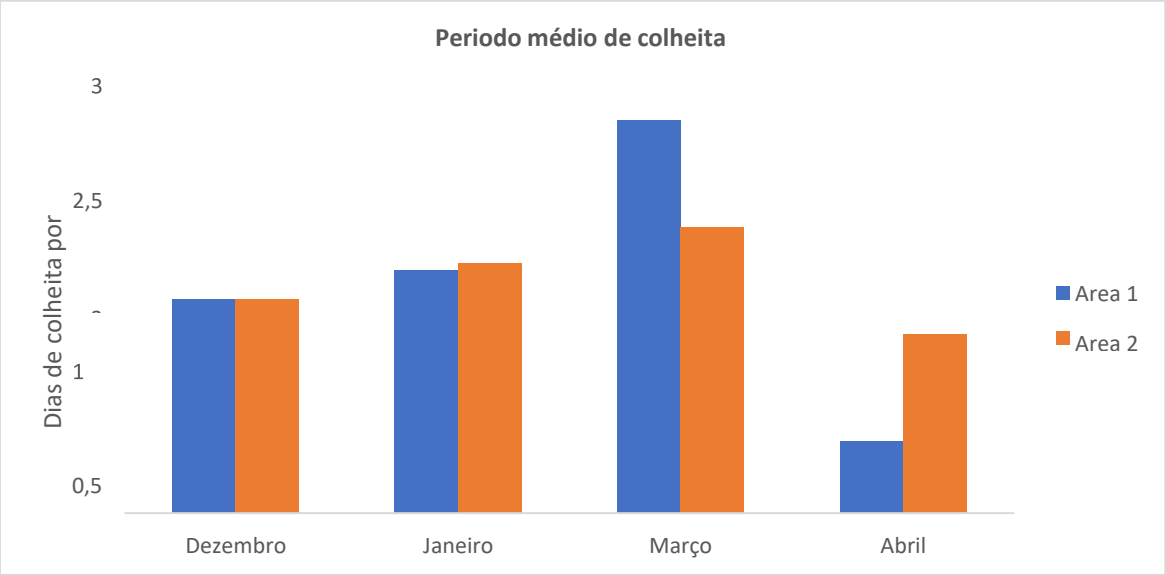
Quanto ao grau Brix (Tabela 2) para as áreas em relação a colheita em 2019 e 2020, ambos períodos de colheita bem como as áreas 1 e 2 não demostraram diferença estatística. De acordo comas características do maracujazeiro azedo, os valores ficaram dentro do desejado, ainda que considerado ácido, apresenta a quantidade de sólidos solúveis dentro dos padrões de comercialização que estipula 11ºBrix (BRASIL, 2003).

Valores semelhantes foram obtidos por Álvares *et al*. (2010) obtendo valores médios de 13,71 % e 11,76 %, avaliando dois estabelecimentos no estado do Acre. Diferente do encontrado por Séssa (1985) referente a 14,00ºBrix, demonstrando-se mais ácido.

O sólido solúvel obtido pode não ter sido alterado devido à característica da variedade juntamente com a nutrição equilibrada de potássio, nutriente que influencia diretamente na acidez dofruto, além do período de colheita ser realizado com frutos em estado de maturação e de frutos já caídos dos pés.

O gráfico a seguir (Gráfico 1) representa o período médio de colheita dos frutos por semana, na área 1 e 2 nos anos de 2019 e 2020, demonstrando a curva da linha de tendência de maior período de colheita da lavoura.

Gráfico 1: Período médio de colheita obtido através através de à análise produtiva de dois períodos de safra do maracujazeiro azedo (Passiflora edulis Sims) no estado de Rondônia. Presidente Médici. RO. Safra de 2019/2020.



Fonte: Os Autores.

O (Gráfico 1) demonstra que a maior quantidade de colheitas durante a semana ocorreram nomês de janeiro e março, ou seja, final da primeira safra de 2019/2020 e no mês de março representando o inicio da colheita da segunda safra de 2020.

Em relação as áreas de colheita no mês de dezembro não apresentaram diferença, no período que representava o inicio da colheita, em janeiro a área 2 apresentou maior quantidade de dias de colheita durante a semana. Já na segunda safra a área 1 resultou em maior quantidade em torno de 2,5 dias por semana, decrescendo no final da safra no mês de abril. A área 2 foi conduzida com colheitas mais uniformes sem apresentar brusco crescimento ou declínio mantendo-se entre 1 a 2 dias por semana.

O período médio de colheita pode ser influenciado pelo índice de maturação da lavoura, bem como a intensidade de colheita estipulada pelo agricultor, entretanto nota-se que a segunda safra já se demonstrou com maior índice de maturação em relação à primeira, por se tratar de um fruto climatérico, pode ser influenciado pela horas de luz por dia, temperatura ou ainda maior desenvolvimento vegetativo da planta, obtendo maior desenvolvimento foliar e radicular e consequentemente foto assimilados propiciando um rápido desenvolvimento e enchimento dos frutos (COSTA *et al*., 2002).

Avaliando as áreas em função dos períodos de colheita é possível observar que a área 1 na primeira safra apresentou-se estatisticamente inferior aos demais tratamentos. A área 2 em ambas safras e área 1 safra de 2020 não diferiram estatisticamente em relação as variáveis avaliadas, o período de safra de 2020 demonstrou-se com maior período médio de colheita se comparado a 2019.

4. CONCLUSÃO

De acordo com os dados obtidos conclui-se que as safras durante o primeiro ano de plantio não apresentaram diferença significativa na produtividade, afetando somente a quantidade de frutos viáveis e a quantidade de perca através dos frutos descartados.

A qualidade do fruto em relação à quantidade de sólidos solúveis não foi influenciada em relação aos dois períodos de safra.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, Cleirton; MENDES, Luana; MACÊDO, Mariana; GURGEL, Tárcia; RAMALHO, Terezinha. **Ciência de agricultor**. UFERSA. 2013. Disponivel em: http://cienciadeagricultor.blogspot.com/2013/07/grau-brix.html. Acesso em: 09/09/2020.

ÁLVARES, S. V; LIMA, A. C; COSTA, D. A; LIMA, M. L; MACIEL, V. T; LESSA, L. S. **Caracterização fisíco-quimica de maracujá amarelo comercializado em Rio Branco**, Acre. 4p. 2010. Disponivel em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br /digital/bitstream/item/191196/1/23704.pdf. Acesso em: 27/09/2020.

ÁVILA, Crébio José; XAVIER, Luciane Modenez Saldivar; GÓMEZ, Daniel Souza. **Ocorrência, flutuação populacional, distribuição vertical no solo e controle do percevejo cstanho da raiz*, Scaptocoris spp.* (Hemiptera: Cydnidae) na cultura do algodoeiro, em Mato Grosso do Sul.** MS. Embrapa Agropecuária Oeste, 2009. 36p. Disponivel em:infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/574030/1/BP200950.pdf. Acesso em: 26/09/2020.

AULAR, J.; CASARES, M.; NATALE, W.; Nutrição mineral e qualidade do fruto do abacaxizeiro e do maracujazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 4, p. 1046-1054,Dezembro, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 12 de 4 de Setembro de 2003.** Diário Oficial, Brasília, Seção1, p.72-76. 2003.

CENCI, S. A; SOARES, A. G.; FREIRE JUNIOR, M. **Manual de perdas pós-colheita em frutos ehortaliças**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, Documentos, 27, 1997. 29p.

CERVI, A.C.; AZEVEDO, M.A.M. de; BERNACCI, L.C. Passifloraceae. In FORZZA, R.F. et al (Ed). Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Rio de Janeiro: **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. V. 2, p.1432-1436, 2010.

COELHO A.A *et al*. 2010. Qualidade do suco de maracujáamarelo em diferentes pontos de colheitae após o amadurecimento. Ciência e Agrotecnologia 34: 722-729

COSTA, F.A. *et al.* 2002. Rendimento de melão Cantaloupe em diferentes coberturas do solo e lâminas de irrigação**. Horticultura Brasileira**, Brasília, 20: Suplemento 2. CDROM. Trabalho apresentado no 42o Congresso Brasileiro de Olericultura, 2002.

CUNHA M. **Produtividade e características de frutos de pomares de maracujá implantados comsementes originais e reaproveitadas do híbrido BRS Gigante Amarelo.** Dissertação (Mestrado em Agronomia). Brasília: UnB, 2013. 64p.

DUART, Marcos. **Delineamento inteiramente casualizado**. Info escola. 2020. Disponivel em: https://www.infoescola.com/estatistica/delineamento-inteiramente-casualizado/. Acesso em;09/09/2020.

EMBRAPA. **Produção brasileira de maracujá em 2018**. 2019. Disponível em: file:///C:/Users/aleix/Downloads/b1_maracuja.pdf. Acesso em: 07/09/2020.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; OLIVEIRA, E.J.; PEIXOTO, J.R., COSTA, A.M. **Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro: histórico e perspectivas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011. 36 p. (Documentos/Embrapa Cerrados Nº 307).

GRIGOLO, D. C ; GUOLLO, K ; POSSENTI, J. C; FRANCESCHI, F ; TARTAS, P. L ; LOIOLA, T. M. Forma de coleta de frutos e remoção de barreira física sobre a germinação de Balfourodendronriedelianum (Engl.) Engl. **Cadernos de Agroecologia** . Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF, Vol. 13, n° 1, Jul. 2018.

GONTIJO, Geraldo Magela. Cultivo do maracujá. Brasília : **Emater**, n. 26, DF, 2017. 21p. Disponivel em: http://www.cpac.embrapa.br/publico/usuarios/uploads/ minicursomaracuja/cartilhamaracuja.pdf. Acesso em: 16/09/2020.

IBGE. Senso 2019: **Presidente Médici**. 2019. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ro/presidente-medici/panorama. Acesso em 02 de setembro de 2020.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal**, v. 38, 2012. Disponível em //ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao_Agricola_Municipal. Acesso em 07/09/2020.

JÚNIOR, G. B. DA S.; CAVALCANTE, I. H. L.; ALBANO, F. G.; OSAJIMA, J. A. Estado nutricional e clorofila foliar do maracujazeiro-amarelo em função de biofertilizantes, calagem eadubação com N e K. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n.2, p. 163-173. 2013

JUNIOR, H. B. M; ALVES, R. P .B; MELO, I. N. D. TEIXEIRA, L. M. Produção do maracujazeiroamarelo sob diferente sistemas de condução. Enciclopédia biosfera, **Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.8, n.15; p. 1412-1422. 2012

LAZIA Beatriz. **Conheça as principais pragas e doenças que ataca o maracujá** . Portal agropecuário, Fruticultura. 2012. Disponível em: https://www.portal agropecuario.com.br/agricultura/fruticultura/conheca-as-principais-pragas-e-doencas-que-atacam-o-maracuja/. Acesso em: 26/09/2020.

MAIO, Henrrique. **CÁLCULO DA ÁREA DE TERREIRO COBERTO**. 2014. Disponivel em: https://slideplayer.com.br/slide/51113/. Acesso em: 10/09/2020.

MELO, Karina Tittoto; MANICA, Ivo; JUNQUEIRA, Nilton Tadeu Vilela. Produtividade de seis cultivares de maracujazeiro-azedo durante três anos em Vargem Bonita, DF. **Pesq. agropec. bras**. vol.36 no.9 Brasília Sept. 2001. Disponivel em: https://www.scielo.br/sci elo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2001000900005. Acesso em: 07/10/2020.

MOURA, D.F.; Propriedades Benéficas do Maracujá. 2013. 26 p. Apostila (Bacharelado em Farmácia) - Farmácia, **Universidade do Grande ABC**, Anhanguera, 2013.

NETO, R. C. A; RIBEIRO, A. M. A. de; ALMEIDA, U. O; NEGREIROS, J. R. S. **Caracterização** química, rendimento em polpa bruta e suco de diferentes genótipos de maracujazeiro azedo. Encontro Nacional da Agroindústria. Brasil e Paraíba, 2015. 8p.

NUNES, Amanda, SILVA, Camila. **Suco clarificado de maracujá azedo em diferentes fases de maturação** (*Passiflora edulis Flavicarpa*). Trabalho de Conclusão de Curso Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2013. 23p.

OCDE. Organização para a Cooperação e o Desenvolvimento Econômico. **Regras de funcionamento dos controles de conformidade de frutas e produtos hortícolas abrangidos por padrão**. ANEXO II. Documento C (2006) 95. 2006.

PETRY, Henrique Belmonte. Produção de maracujá: O segredo do sucesso do sucesso

esta nacolheita. **Campos & Negócios**. Maio de 2017. Disponivel em: https://revistacampoenegocios.com.br/producao-de-maracuja-o-segredo-do-sucesso-esta-na- colheita/. Acesso em: 07/10/2020.

PIMENTEL, L.D.; STENZEL, N.M.C.; CRUZ, C.D.; BRUCNER, C.H. Épocas de avaliação da produtividade em maracujazeiro visando à seleção precoce. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 2008.

REIS, Ailton; LOPES, Carlos Alberto *et al*. **Berinjela (*Solanum melongena* L.)**. Embrapa hortaliças.Novembro, 2007. Disponivel em: https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Berinjela/Berinjela_Solanum_melongena_L/poscolheita.html. Acesso em: 10/09/2020.

RONDÔNIA. Secretaria de Estado do Desenvolvimento Ambiental − SEDAM. **Boletim Climatológico de Rondônia 2008**. Anual. 40 p. Disponível em: http://www.sedam.ro.gov.br/images/stories/metereologia/DLFE-664.pdf. Acesso em: 08/9/2020

ROSSETTO, Raffaella; SANTIAGO, Antônio Dias. **Arvore do conhecimento: cana-de-açúcar**. Embrapa/ Ageitec. 2006. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de- acucar/arvore/CONTAG01_82_22122006154841.html. Acesso em: 10/09/2020.

SANTOS, Carlos Lacy. **Produtividade e qualidade dos frutos de progênies de maracujazeiro azedo (Passiflora edulis Sims) adubadas com nitrogênio e potássio.** Universidade Estadual Do Norte Fluminense. RJ. 2015.115p.

SANTOS, V. A. *et al*. **Produção e qualidade de frutos de maracujazeiro-amarelo provenientes do cultivo com mudas em diferentes idades**. 2016. 8 f. Artigo (Doutorado em Agronomia) - Engenharia Agronômica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil. 2016.

Séssa, M.C.M. **Aspectos tecnológicos e caracterização física, físico-química e química do maracujá (*Passiflora edulis f. flavicarpa Deg*).** Fortaleza, (Tese de Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará 1985.123p.

SIQUEIRA, D.L. de; PIMENTEL, L.D. Características físicas do maracujá-azedo em função do genótipo e massa do fruto. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, p.1102-1110, 2009.

SILVA, T.V.; RESENDE, E. D.; PIO-VIANNA, A.; ROSA, R.C.C.; PEREIRA, S.M.F.; CARLOS, L.A.; VITORAZI, L. Influência dos estádios de maturação na qualidade do suco do maracujá- amarelo. **Rev. Bras. Frutic**., Jaboticabal - SP, v. 27, 3: 472-475, 2005.

SENHOR, R F; SOUZA, P. A; CARVALHO, J. N; SILVAL, F. L; SILVA, M. C. Fatores de pré e pós-colheita que afetam os frutos e hortaliças em pós-colheita. **Revista Verde**, RN. v.4, n.3, p. 13- 21. 2009.

SILVA, J. B. C; GIORDANO, L. B; FURUMOTO, L. S; FRANÇA, F. H; *Et al.* Cultivo de tomate para industrialização. Embrapa Hortaliças. 2008. Disponivel em: https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/colheita.htm. Acesso em: 26/09/2020.

STENZEL, C. M. N; AULER, P. A. M; MOLINA, R. O; JUNIOR, D. S. Cultivo do maracujá- amarelo: Em áreas com ocorrência do vírus do endurecimento dos frutos (CABMV). Londrina, PR.IAPAR, 2019. 29 p.

CAPÍTULO 08

ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOFILM ACTIVITY OF *PHYSALIS* PERUVIANA CALYX EXTRACT

Maiara Taís Bazana
Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria/RS, Brasil.
E-mail: maiarabazana@gmail.com

Marcos Vinícius Missel
Mestre em Ciências Farmacêuticas Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria/RS, Brasil.
E-mail: marcos_missel@hotmail.com

Cassandra de Deus
Mestranda em Ciência e Tecnologia dos AlimentosUniversidade Federal de Santa Maria (UFSM)
Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria/RS, Brasil.
E-mail: cassandradedeus@hotmail.com

Vandré Sonza Pinto
Acadêmico de Tecnologia em Alimentos Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria/RS, Brasil.
E-mail: sonza.vandre@gmail.com

Cristiane Franco Codevilla
Doutora em Ciências Farmacêuticas Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria/RS, Brasil.
E-mail: cristianefc@hotmail.com

Roberto Christ Vianna Santos
Doutor em Biologia Celular e Molecular Docente na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria,
Endereço: Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria/RS, Brasil.
E-mail: robertochrist@gmail.com

Cristiane de Bona da Silva
Doutora em Ciências Farmacêuticas
Docente na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
Departamento de Farmácia Industrial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria/RS, Brasil.
E-mail: csbona@smail.ufsm.br

Cristiano Ragagnin de Menezes
Doutor em Ciência de Alimentos
Docente na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria
Endereço: Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria/RS, Brasil.
E-mail: cristiano.ufsm@gmail.com

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the antibacterial and antibiofilm activity of a P. peruviana calyx extract.Goldenberry calyx extracts were prepared with 60 % (v/v) ethanol. Minimum inhibitory concentration(MIC) analyses were performed by the 96-well plate microdilution method together with the minimum bactericidal concentration (MBC). Biofilm inhibition and destruction was performed in microdilution plates. The P. peruviana calyx extract presented antibacterial activity against the pathogens analyzed (Enterobacter aerogenes ATCC 13048, Klebsiella pneumoniae ATCC 1705, Staphylococcus epidermidis (clinical isolate), Streptococcus pneumoniae ATCC 99619, Pseudomonas aeruginosa PA01, Enterococcus faecalis ATCC 29212, Escherichia coli (clinical isolate), Shigella sonnei (clinical isolate), Acinetobacter baumannii ATCC 19606, Streptococcus agalactie (clinical isolate), Acinetobacter baumannii (clinical isolate), Salmonella sp. (clinical isolate), Salmonella enteritidis (clinical isolate), and Staphylococcus aureus (clinical isolate)). MIC varied from 3.15 to 30 mg/mL extract and showed bacteriostatic activity against eight pathogens and bactericidal activity at 30 mg/mL concentration against six strains. Biofilm tests revealed biofilm formation inhibition, although there was no destruction. According to these results, the potential antibacterial activity of P. peruviana calyx extract was verified. This will enable further studies to becarried out to contribute to its use in the food industry as a preservative of natural origin and other clinical applications.

KEYWORDS: Biofilm, goldenberry, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration.

RESUMO: Este estudo teve como objetivos avaliar a atividade antibacteriana e antibiofilme do extrato do cálicede P. peruviana. Os extratos do cálice de goldenberry foram preparados com etanol 60 % (v/v). As análises de concentração inibitória mínima (CIM) foram realizadas pelo método de microdiluição em placas de 96 poços, juntamente com a concentração bactericida mínima (CBM). A inibição e destruição de biofilme foi realizada em placas de microdiluição. O extrato do cálice de P. Peruviana apresentou atividade antibacteriana frente aos patógenos analisados (Enterobacter aerogenes ATCC 13048, Klebsiella pneumoniae ATCC 1705, Staphylococcus epidermidis (isolado clínico), Streptococcus pneumoniae ATCC 99619, Pseudomonas aeruginosa PA01, Enterococcus faecalis ATCC 29212, Escherichia coli (isolado clínico), Shigella sonnei (isolado clínico), Acinetobacter baumannii ATCC 19606,

Streptococcus agalactie (isolado clínico), Acinetobacter baumannii (isolado clínico), Salmonella sp. (isolado clínico), Salmonella enteritidis (isolado clínico), e Staphylococcus aureus (isolado clínico). A CIM variou de 3,15 a 30 mg/mL de extrato, demonstrando atividade bacteriostática frente a oito patógenos e atividade bactericida na concentração de 30 mg/mL frente aseis cepas. Os testes de biofilme revelaram inibição da formação de biofilme, embora não tenha havido destruição. De acordo com esses resultados, foi verificada a potencial atividade antibacterianado extrato do cálice de P. peruviana. Isto possibilitará que novos estudos sejam realizados para contribuir na sua utilização na indústria de alimentos, como um conservante de origem natural e outras aplicações clínicas.

PALAVRAS-CHAVE: Biofilme, goldenberry, concentração inibitória mínima, concentração bactericida mínima.

1. INTRODUCTION

Among the new natural sources, *Physalis peruviana* has been studied for its antimicrobial potential. Ertürk *et al*. (2017) [1] evaluated the antioxidant and antimicrobial activity of ethanolicextracts from different parts of *P. peruviana* (fruit, seed, root, body and leaf). Seeds and fruit were the most effective of the plant in terms of its antimicrobial activity. In another study, the dimethyl sulfoxide extract of *P. peruviana* fruit inhibited the growth of microorganisms used in the test [2]. All parts of the *P. peruviana* plant may be potential sources of antimicrobial agents, the most potentbeing leaf extracts in dichloromethane [3]. In addition, the ripe berries and leaves of *P. peruviana* were evaluated and the ethanolic extracts were more effective than the aqueous ones [4].

P. peruviana fruit is usually marketed without its calyx; consequently, the waste generated byits trade is substantial. Colombia is the world's leading producer of *P. peruviana*, which represents the country's second largest exported product. However, waste generated by the agro-industrial sector, particularly fruit and vegetable waste, is a major economic and environmental issue for manycompanies, as it is up to them to assume the cost of their management [5].

The bacteria used in this study were chosen due to their clinical and food industry interest. Some strains used were based on the World Health Organization's list of priority microorganisms for research and development of new antibiotics. Among them, Priority 1: CRITICAL (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and the *Enterobacteriaceae* family). Priority 2: HIGH (*Staphylococcus aureus* and the *Salmonellae* family). Priority 3: MEDIUM (*Streptococcus pneumoniae* and *Shigella spp.* [6]. In addition to these, *Staphylococcus epidermidis* was also studiedbecause of its clinical interest [7]. The other studied foodborne pathogens that can cause foodborne diseases are (*Salmonella sp., Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, and *Streptococcus agalactie*) [8].

P. aeruginosa PA01 is a Gram-negative rod and considered a standard biofilm-producing strain and important pathogen for this study. A biofilm is a complex of bacterial cells lined with a polysaccharide layer that acts as a protective factor for bacteria against antimicrobial attacks and thehost immune system. The formation of biofilms causes considerable problems in the medical and industrial area, as these structures cause greater resistance to treatment with antibiotics and biocides.

Resistance to antibiotic therapy and emergence of multiresistant strains is worrisome, and new therapeutic approaches are required [9].

Several chemical preservatives are used to control these foodborne pathogens [10]. However, due to the increased awareness of the side effects of these additives, there is a growing consumer demand for natural products in place of chemical preservatives. In recent years, research on natural antimicrobial compounds has increased at a rapid pace [11].

There are a variety of natural preservatives from different sources and with different preservation properties, such as plant extracts, essential oils, organic acids (acetic, ascorbic, tartaric, malic, and citric), lactic acid bacteria and bacteriocins from microbiological sources, and chitosan of animal origin [12]. Plants that possess these properties have bioactive compounds that act to protect plants from microbiological attacks, although they can also be exploited and employed by humans as sources of food and medicine [13].

Thus, *P. peruviana* calyces are an important by-product that deserves further study in order that different sources of reuse can be explored and the database on their antimicrobial activity expanded. Therefore, the aim of this study was to evaluate, for the first time, the antibacterial activity against different microorganisms and antibiofilm activity against *Pseudomonas aeruginosa* of *P. peruviana* calyx extract for therapeutic and food application.

2. MATERIAL AND METHODS

Material: *P. peruviana* calyces were obtained from Italbraz (Vacaria, Brazil - 28:0:44 S and 50:56:02 W) in the 2016/2017 harvest. Mueller Hinton broth (Himedia®) and Mueller-Hinton agar (Sigma-Aldrich®) and crystal violet (Sigma Chemical®) were used.

Microorganisms and inoculum: American Type Culture Collection (ATCC) bacterial strains and clinical isolates provided by the UFSM Department of Microbiology and Parasitology were used [*Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Klebsiella pneumonia* ATCC 1705, *Escherichia coli* (clinical isolate), *Staphylococcus epidermidis* (clinical isolate), *Streptococcus pneumoniae* ATCC 99619, *Shigella sonnei* (clinical isolate), *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Streptococcus agalactie* (clinical isolate), *Acinetobacter baumannii* (clinical isolate), *Pseudomonas aeruginosa* PA01, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Salmonella sp.* (clinical

isolate), *Salmonella enteritidis* (clinical isolate), *and Staphylococcus aureus* (clinical isolate)]. The bacterial inoculum sizes were standardized according to CLSI guidelines (2017) [14]. Isolated colonies were grown for18 and 24 h in Mueller Hinton Agar and the suspension prepared in saline solution (NaCl 0.85 %) with density adjusted to 0.5 on the McFarland scale ($1.5x10^8$ CFU/mL).

Extraction: The calyx extracts were prepared following Bazana et al. (2019) [15]. The *P. peruviana* calyces (3 g) were separated from the fruit, submitted to knife milling (Mill MA 630/1- Marconi) (speed = 5 rpm, time = 10s), added with 50 mL of 60% ethanol (v/v), and submitted to stirring in a homogenizer (Shaker model TE 421-Tecnal, Piracicaba, SP, Brazil) at 200 rpm for 2 h. Afterwards, the extracts were filtered in a qualitative filter (Fitec) for coarse separation of the calyx.Subsequently, the extract was subjected to filtration in a polypropylene syringe (0.22-µm pore size) (Chromfilter) and kept in a refrigerated environment.

Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC): The MICs were determined by the microdilution method according to Clinical and Laboratory Standards Institute [14]. The assay was carried out in 96-well- microplates using Mueller Hinton broth (MHB). Several concentrations of *P. peruviana* calyx extract(60; 30; 15; 7.5; 3.75; and 1.87 mg/mL) was diluted in ethanol 60 % (v/v) and added in wells with MHB and the suspension with microorganism (0.5 MacFarland scale). The positive control was considered the well with the bacterial suspension and MHB while the negative control was MHB andextract. A control with ethanol 60 % (v/v) was performed to discard the diluent activity. The plates were incubated at 37 °C and the minimum inhibitory concentration (MIC) was recorded after 24 h ofincubation. 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride was used as an indicator which develop a red colour in the microbial grown. The assays were performed in triplicate. The MICs were defined as the lowest concentration that inhibits visible bacterial growth. The determination of the MBC was performed inconjunction with the MIC, using the method proposed by Courvalin (1985) [16]. After the determination of MIC, wells containing visible or non-visible growth were transferred to Petri dishescontaining the solid Mueller-Hinton agar and incubated at 37 °C for 18-24 hours. After this period, the number of colonies per plaque was determined and the MBC was defined as the lowest concentration of the extract that presented 0.01 % viable bacteria.

Biofilm inhibition: For this analysis, 15 µL of inoculum were pipetted with 100

µL MHB and 100 µL of extract, in MIC and subinhibitory concentrations into four wells of a sterile flat- bottomed microtiter plate. After incubation for 24 h at 37 °C, all of the planktonic microorganisms were removed and washed with distilled water three times. The biofilm was visualised by adding 200 µL of 0.1 % crystal violet solution to each well. The microplates were washed with distilled water andair-dried. To solubilize the biofilm, 200 µL of 95 % ethanol was added. The solution was transferredto a new microtiter plate and the biofilm formation was revealed by measuring the absorbance at 570nm in a microplate reader. For the control culture, broth was used for negative control and only *P. aeruginosa* PA01 inoculum for positive control [17].

Biofilm destruction: 15 µL of inoculum with 185 µL of MHB was pipetted into four wells of a sterile flat-bottomed microtiter plate. After incubation for 24 h at 37 °C, the planktonic microorganisms were removed from the wells and the extracts added in MIC and sub-inhibitory concentrations. After incubation for 24 h at 37 °C, all of the planktonic microorganisms were removedand washed with distilled water three times. The biofilm was visualised by adding 200 µL of 0.1% crystal violet solution to each well. The microplates were washed with distilled water and air-dried. To solubilize the biofilm, 200 µL of 95 % ethanol was added. The solution was transferred to a new microtiter plate and the biofilm formation was revealed by measuring the absorbance at 570 nm in amicroplate reader. For the controls, culture broth was used as the negative control and only *P. aeruginosa PA01* inoculum was used as the positive control [17].

Statistical analyses: The experiments were performed in triplicate. The results were evaluated by analysis of variance (ANOVA), and the means were compared by the Tukey test, considering the level of significance at 5 % ($p<0.05$).

3. RESULTS AND DISCUSSION

Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC)

The antimicrobial activity of the ethanolic extracts of *P. peruviana* calyx is shown in Table 1. The lowest minimum inhibitory concentration observed was against *Enterococcus faecalis* bacteria,in which the extract concentration of 3.75 mg/mL was able to inhibit growth of this bacterium. MBC = 30 mg/mL was found for *Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis, Streptococcus pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* PAO1e *Enterococcus faecalis*, indicating that

for these bacteria the 30 mg/mL *P. peruviana* calyx extract has a bactericidal action. For the other microorganisms, MBC ≥ 30 mg/mL indicated that the extract has bacteriostatic action. These results suggest that the bioactive compounds of calyx are responsible for antimicrobial action. According to Ballesteros-Vivas et al. (2019) [18], several compounds were identified in the *P. peruviana* calyx as phytochemicals (terpenoids, phytosterols, and phytol derivatives), flavonoids, phenolic acids, and withanolides. Phytosterols are reported as bioactive compounds of great interestdue to their antioxidant capacity and health impact. They are referred to as anti-inflammatory, antitumor, antibacterial, antifungal, and hypocholesterolemic compounds. Its presence in significant levels in oil extracted from the skin and pulp of *P. peruviana* has already been found [19]. Accordingto these values, the calyx extract can be considered promising for use as a preservative of natural origin or to be part of a sanitizer for use in the food industry.

Table 1. MIC and MBC values of *P. peruviana* calyx extract against bacterial strains.

Bacterial strains	* MIC (mg/mL)	** MBC (mg/mL)
Enterobacter aerogenes ATCC 13048	30	30
Klebsiella pneumoniae ATCC 1705	30	30
Escherichia coli (Clinical isolate)	7.5	≥ 30
Staphylococcus epidermidis (Clinical isolate)	15	30
Streptococcus pneumoniae ATCC 99619	30	30
Shigella sonnei (Clinical isolate)	15	≥ 30
Acinetobacter baumannii ATCC 19606	7.5	≥ 30
Streptococcus agalactie (Clinical isolate)	7.5	≥ 30
Acinetobacter baumannii (Clinical isolate)	30	≥ 30
Pseudomonas aeruginosa PA01	7.5	30
Enterococcus faecalis ATCC 29212	3.75	30
Salmonella sp. (Clinical isolate)	15	≥ 30
Salmonella enteritidis (Clinical isolate)	7.5	≥ 30
Staphylococcus aureus (Clinical isolate)	7.5	≥ 30

* Minimum Inhibitory Concentration
** Minimum Bactericidal Concentration

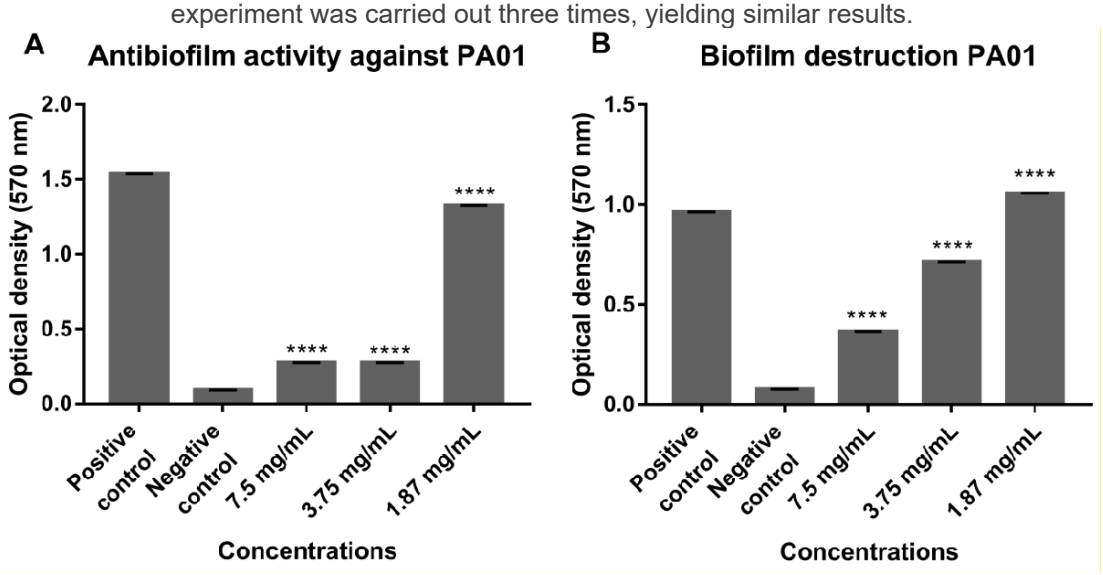
Biofilm inhibition and destruction

The results regarding biofilm are shown in Figure 1. The biofilm growth in our study was confirmed by the standard *P. aeruginosa* strain PA01 (control) with 100% growth. *P. aeruginosa* is known to be an opportunistic human pathogen capable of causing a wide range of acute and chronic infections that can be life threatening, particularly in immunocompromised patients. *P. aeruginosa* has been historically associated with lung infections in cystic fibrosis patients and is one of the major nosocomial pathogens that affects hospitalized patients, while being intrinsically resistant to a wide range of antibiotics [20]. In addition, the presence of *Pseudomonas* biofilms is also found in food production and its facilities, causing food spoilage and generating various problems [21].

Food contamination is quite recurrent, for example, Crippa et al. (2020) [22] analyzed minimally processed fruits and vegetables that presented values outside the acceptable limits for thermotolerant coliforms and found enterotoxin-producing strains in vitro and biofilm-producing strains on stainless steel and glass surfaces. This demonstrates that the analyzed products were considered unfit for consumption and presented levels of contamination above the recommended by legislation [22]. Therefore, plant extracts and essential oils have been studied as promising alternatives due to their actions to inhibit bacterial growth [23, 24].

P. peruviana calyx extract concentrations of 3.75 and 7.5 mg/mL inhibited biofilm formationin the early stages (Figure 1A). Biofilm destruction testing showed that no condition led to total destruction of the microorganism (Figure 1B). The lowest extract concentration (1.87 mg/mL) did not have the ability to inhibit biofilm formation, i.e. the most effective concentrations to inhibit *P. aeruginosa* PA01 biofilm formation were 3.75 and 7.5 mg/mL of calyx extract.

Figure 1. A: Inhibition of *P. aeruginosa* PA01 biofilm formation. B: Destruction of *P. aeruginosa* biofilm. *Error bars* are shown as one standard deviation and differences were considered statistically significant when $p < 0.0001$ between the positive control and the corresponding concentration. Each experiment was carried out three times, yielding similar results.



4. CONCLUSION

The *P. peruviana* calyx extract showed antibacterial activity against the pathogens analyzed.The minimum inhibitory concentration ranged from 3.15 to 30 mg/mL extract. The highest activity demonstrated was bacteriostatic, but also had bactericidal activity at a concentration of 30 mg/mL against *Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* PA01, and *Enterococcus faecalis*, indicating that, at this concentration, it acts as a bactericidal agent against these pathogens. Regarding the biofilm tests, there was inhibition of biofilm formation at the concentrations of 3.75 and 7.5 mg/mL of the calyx extract and partial destruction at the same concentrations. These results may be used in future research with emphasis on the use of *P. peruviana* calyx extract in therapeutic approaches and the food industry as a preservative of natural origin.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financed in part by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)* - Finance Code 001 and Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grandedo Sul (FAPERGS).

DECLARATION OF CONFLICTING INTERESTS

We have no conflicts of interest to declare.

REFERENCES

[1] Ö. Ertürk, M. Çol Ayvaz, Z. Can, Ü. Karaman, K. Korkmaz, Antioxidant, antimicrobial activities and phenolic and chemical contents of *Physalis peruviana* L. from Trabzon, Turkey,Indian J. Pharm. Educ. Res. 51 (2017) S213–S216. https://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.15.

[2] F. Göztok, F. Zengin, The antimicrobial activity of *Physalis peruviana* L., Bitlis Eren Univ. J.Sci. Technol. 3 (2013) 15–17. https://doi.org/10.17678/beujst.51277.

[3] P.K. Kamau, Z. Ng'ang'a, P. Gakio, F.M. Njeruh, J. Thuita, Antimicrobial evaluation and phytochemical screening of aqueous and dichloromethane crude extracts of Kenyan *Physalis peruviana* L (Cape Gooseberry), 16 (2017) 101–109. https://doi.org/10.9790/0853- 160509101109.

[4] M.B.R. Cueva, R.A. Tigre León, M.M.L. Angel Yanchaliquín, I.F.B.M. Herminia SanaguanoSalguero, Antibacterial Effects of Uvilla (*Physalis peruviana* L.) extracts against Listeria spp.Isolated from Meat in Ecuador, Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 6 (2017) 1146–1153. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.604.141.

[5] S. Medina, J. Collado-González, F. Ferreres, J. Londoño-Londoño, C. Jiménez-Cartagena, A.Guy, T. Durand, J.M. Galano, Á. Gil-Izquierdo, Potential of *Physalis peruviana* calyces as a low-cost valuable resource of phytoprostanes and phenolic compounds, J. Sci. Food Agric. 99(2019) 2194–2204. https://doi.org/10.1002/jsfa.9413.

[6] WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed, World Heal. Organ. (2017). https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed (accessed April 13, 2020).

[7] L. R. Trabulsi, F. Alterthum, Microbiologia, sixth ed., Atheneu, São Paulo, 2015.

[8] S.J. Forsythe, Microbiologia da segurança dos alimentos, second ed., Artmed, Porto Alegre, 2013.

[9] J.L. da C. Lima, L.R. Alves, P.R.L. de A. Jacomé, J.P. Bezerra Neto, M.A.V. Maciel, M.M.C.de Morais, Biofilm production by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and structuralchanges in LasR protein of isolates non biofilm-producing, Brazilian J. Infect. Dis. 22 (2018)129–136. https://doi.org/10.1016/j.bjid.2018.03.003.

[10] J. Bai, Y.T. Kim, S. Ryu, J.H. Lee, Biocontrol and rapid detection of food-borne pathogens using bacteriophages and endolysins, Front. Microbiol. 7 (2016) 1–15. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00474.

[11] K.H. Lee, J.S. Lee, E.S. Kim, H.G. Lee, Preparation, characterization, and food application ofrosemary extract-loaded antimicrobial nanoparticle dispersions, LWT. 101 (2019) 138–144. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.072.

[12] R.C. Baptista, C.N. Horita, A.S.S. Ana, Natural products with preservative properties for enhancing the microbiological safety and extending the shelf-life of seafood: a review, Food Res. Int. 127 (2019) 108762. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108762.

[13] H. Antolak, G. Kregiel, Food preservatives from plants, in: Food Addit., 2017: pp. 45–48. https://doi.org/10.5772/intechopen.70090.

[14] CLSI, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.

[15] M.T. Bazana, S.S. da Silva, C.F. Codevilla, C. de Deus, B.N. Lucas, G.A. Ugalde, M.A. Mazutti, E.M. Moraes Flores, J.S. Barin, C. de Bona da Silva, C.R. de Menezes, Developmentof nanoemulsions containing *Physalis peruviana* calyx extract: A study on stability and antioxidant capacity, Food Res. Int. 125 (2019) 108645. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108645.

[16] P. Courvalin, L'ant biogramme, Paris, 1985.

[17] P.C. Bonez, G.G. Rossi, J.R. Bandeira, A.P. Ramos, C.R. Mizdal, V.A. Agertt, E.S.S. Dalla Nora, M.E. de Souza, C.F. dos Santos Alves, F.S. dos Santos, A. Gündel, R. de Almeida Vaucher, R.C.V. Santos, M.M.A. de Campos, Anti-biofilm activity of A22 ((S-3,4- dichlorobenzyl) isothiourea hydrochloride) against *Pseudomonas aeruginosa*: Influence on biofilm formation, motility and bioadhesion, Microb. Pathog. 111 (2017) 6–13. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.008.

[18] D. Ballesteros-Vivas, G. Álvarez-Rivera, E. Ibáñez, F. Parada-Alfonso, A. Cifuentes, A multi-analytical platform based on pressurized-liquid extraction, *in vitro* assays and liquid chromatography/gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry for food by-products valorisation. Part 2: Characterization of bioactive compound, J. Chromatogr. A. 1584 (2019) 144–154. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.11.054.

[19] L.A. Puente, C.A. Pinto-Muñoz, E.S. Castro, M. Cortés, *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review, Food Res. Int. 44 (2011) 1733–1740.https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.034.

[20] M.F. Moradali, S. Ghods, B.H.A. Rehm, Pseudomonas aeruginosa Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence, Front. Cell. Infect. Microbiol. 7 (2017) 1–29. https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00039.

[21] A. Meliani, A. Bensoltane, Review of *Pseudomonas* Attachment and Biofilm Formation in Food Industry, Poultry, Fish. Wildl. Sci. 03 (2016) 1–7. https://doi.org/10.4172/2375-446x.1000126.

[22] B.L. Crippa, M.R.Z. Elgui, P.E. Budri, I.G. Castilho, Microbiological evaluation of minimallyprocessed foods. Genotypic and phenotypic profile of *Staphylococcus sp* strains, regarding theproduction of biofilm and enterotoxins, Braz. J. of Develop.6(9) (2020) 65789-65804. https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/16240

[23] L.C.P. Silva, J.V.L. Silva, T.S.S. Melo, D.R.S. Silva, D.G. Costa, T.C.L. Vasconcelos, Análise*in vitro* da atividade antimicrobiana do extrato de *Vaccinium Macrocarpon* (Cranberry) e óleoessencial de *Origanum vulgare* (Orégano) frente à cepa de *Escherichia coli*, Braz. J. of Develop. 6 (9) (2020) 70057-70069. https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/16893/13777

[24] J.O.S. Vargas, R.Reis, G. Maldaner, P.A. Mariño, A.P.S. Menezes, Avaliação do potencial antibacteriano e antifúngico de *Maytenus* ilicifolia (Mart. ex Reissek) oriunda da região do Bioma Pampa, Braz. J. of Develop. 6(9) (2020) 66364-66376. https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/16316/13343.

CAPÍTULO 09

EVALUACIÓN DE ESTIRPES BACTERIANAS PARA LA FORMACIÓN DE CONSORCIO PROBIÓTICO PARA USO EN EL CULTIVO DE CAMARONES MARINOS: *LITOPENAEUS VANNAMEI*

Marina Teresa Torres Rodríguez
Doutora em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará
Instituição: Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da UFC, Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, Secretaria de Desenvolvimento Econômico y Trabalho (SEDET) .
Endereço: Av. da Abolição, 3207 - Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza-CE, Brasil
E-mail: marinatorresrodriguezm@gmail.com

Jéssica Lucinda Saldanha da Silva
Doutora em Engenharia de Pesca pela Universidade Federal do Ceará
Instituição: Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR)-UFC, Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico-FUNCAP, Secretaria de Desenvolvimento Econômico y Trabalho (SEDET) .
Endereço: Av. da Abolição, 3207 - Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza-CE, Brasil
E-mail: jessicalucinda@hotmail.com

Jade Oliveira Abreu
Mestre em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará.
Instituição: Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR)- UFC.
Endereço: Av. da Abolição, 3207 - Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza-CE, Brasil
E-mail: jadeoabreu@gmail.com

Sandra Rebeca Martins
Bacharelato em Ciências Ambientais Universidade Federal do Ceará
Instituição: Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR)- UFC.
Endereço: Av. da Abolição, 3207 - Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza-CE, Brasil
E-mail: becamartins@yahoo.com

Francisco Sylvanio F. da Silva
Mestre em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará
Instituição: Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR)- UFC.
Endereço: Av. da Abolição, 3207 - Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza-CE, Brasil
E-mail: franciscosylvaniofs@gmail.com

Fátima Cristiane Teles de Carvalho
Doutora em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará
Instituição: Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da UFC
Endereço: Av. da Abolição, 3207 - Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza-CE, Brasil
E-mail: fctcarvalho@yahoo.com.br

Regine Helena S.F. Vieira
Doutora em Ciências Biológicas/ Microbiologia pela Universidade de São Paulo
Instituição: Docente do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará.
Endereço: Av. da Abolição, 3207 - Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza-CE, Brasil
E-mail: reginevieira@terra.com.br

Oscarina Viana de Sousa
Doutora em Ciências/ Microbiologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituição: Docente do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará
Endereço: Av. da Abolição, 3207 - Meireles, CEP: 60165-081, Fortaleza-CE, Brasil
E-mail: oscarinaviana@hotmail.com

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo fue evaluar estirpes bacterianas con características probióticas, aisladas del tracto intestinal de camarones marinos (*Litopenaeus vannamei*). Ciento noventa y una (191) estirpes fueron evaluadas para su selección basada en pruebas fenotípicas y genotípicas incluyendo: factores de virulencia (elastasa, gelatinasa, caseinasa, lípasa e fosfolipasa), tolerancia a diferentes temperaturas (4°C e 40°C) y pHs (5 e 9), prueba de susceptibilidad a antimicrobianos, prueba de agregación, antagonismo y prueba de identificación molecular (secuenciamiento-gen 16S rRNA). Las estirpes identificadas fueron agrupadas en diferentes géneros: *Bacillus*, *Vibrios*, *Staphylococcus* y un grupo con representantes de diferentes géneros bacterianos. Fueron formados tres grupos bacterianos prioritarios atendiendo a la respuesta de las estirpes frente a las diferentes pruebas analizadas. La mayoría de las estirpes (66,45 %) presentó resistência frente a la oxitetraciclina. Todas las estirpes presentaron susceptibilidad frente al cloranfenicol y la tetraciclina. Ninguna estirpe presentó antagonismo frente al patógeno *Vibrio parahaemolyticus*. De las 70 estirpes que formaron parte de los tres grupos prioritarios, 16 estirpes (22,85 %) resultaron antagónicas frente a *Vibrio harvey*. Doce estirpes bacterianas mostraron resultados satisfactorios en la técnica de antagonismo cruzado. Fueron formados tres consorcios bacterianos con aquellas estirpes que cumplieron los requisitos como probiótico potencial.

PALABRAS-CLAVE: Factores de virulencia, secuenciamiento, oxitetraciclina, agregación, antagonismo.

ABSTRACT: The objective of the present work was to evaluate bacterial strains with probiotic characteristics, isolated from the intestinal tract of marine shrimps (*Litopenaeus vannamei*). One hundred ninety- one (191) strains were evaluated for selection based on phenotypic and genotypic tests including: (elastase, gelatinase, caseinase, lípase e fosfolipase), tolerance to different temperatures (4 ° C and 40 ° C) and pHs (5 and 9), antimicrobial susceptibility test, aggregation, antagonism test and molecular identification test (sequencing-gen 16S rRNA). The identified strains were grouped into different genera: *Bacillus*, *Vibrio*, *Staphylococcus*, and a group with representatives of different bacterial genera. Three priority groups were formed based on the response of the strains to the different tests analyzed. Most of the strains (66.45 %) presented resistance against oxytetracycline. All the strains were susceptible to chloramphenicol and tetracycline. None of the strains showed antagonism against the pathogen *Vibrio parahaemolyticus*. Of the 70 strains that were part of the three priority groups, 16 strains (22.85 %) were antagonistic against *Vibrio harvey*. Twelve bacterial strains showed satisfactory results in the cross antagonism technique. Three bacterial consortia were formed with those strains that met the requirements as a potential probiotic.

KEYWORDS: Virulence factors, sequencing, oxitetracycline, aggregation, antagonism.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de organismos acuáticos constituye un sector de gran importancia económica y alimentaria en diferentes países. La producción de alimentos a partir de la acuicultura presenta las mayores tasas de crecimiento en los últimos años (FAO, 2018).

Tradicionalmente y durante mucho tiempo, el control de las enfermedades en los sistemas de cultivo de organismos acuáticos fue fundamentado en el uso de sustancias químicas y antibióticos, por esa razón, el desarrollo de agentes antimicrobianos con menor efecto negativo sobre el ambiente constituye un elemento esencial para el manejo sustentable de la acuicultura (BIDHAM *et al*., 2014).

Una de las alternativas para una acuicultura económica y ambientalmente sustentable es el uso de probióticos (LAZADO y CAIPANG, 2014). De acuerdo con la "Organización para la Agricultura y la Alimentación" los probióticos son organismos vivos que mejoran la salud de los humanos y de los animales y deben ser seguros y en cantidades suficientes para las funciones en el organismo y son alternativas viables para combatir eventos epidémicos de enfermedades bacterianas como la enfermedad de la Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND, sigla en inglés) (REANTASO, 2016). La selección de bacterias probióticas tiene como basamento los siguientes criterios: el género al cual pertenece la bacteria, la estabilidad frente al ácido gástrico, la capacidad de adherirse a la mucosa intestinal, la capacidad de colonizar al menos temporalmente el tracto gastrointestinal, la capacidad deproducir compuestos antimicrobianos y ser metabólicamente activo en el intestino (VERSCHUERE *et al*., 2000).

Entre los organismos empleados como probióticos se destacan las bacterias Gran-negativas pertenecientes a los géneros *Vibrio* y *Pseudomonas* (LAKSHMI, VISWANATH y SAI GOPAL, 2013; HAI, 2015) y entre las bacterias OLHO Gran-positivas, el género *Bacillus* se destaca como el de mayor potencial para el uso principalmente en la carcinicultura (NEWAJ-FYZUL, AL-HARBI y AUSTIN, 2014). El presente trabajo tiene como objetivo evaluar estirpes bacterianas para la formación de consorcio probiótico para uso en el cultivo de camarones marinos *L. vannamei*.

2. MATERIAL y MÉTODOS

2.1 SELECCIÓN DE LAS ESTIRPES BACTERIANAS

Fueron evaluadas 191 estirpes bacterianas que hacen parte de la bacterioteca

del Laboratorio de Microbiología Ambiental y del Pescado (LAMAP), del Instituto de Ciencias del Mar (LABOMAR) dela Universidad Federal de Ceará (UFC) aisladas del tracto intestinal y hemolinfa de camarones marinos(*L. vannamei)*. La selección de las estirpes se basó en la diversidad funcional de las bacterias, su capacidad de colonización y producción de componentes extracelulares relacionados al favorecimiento del desempeño zootécnico y la estimulación de las respuestas inmunológicas frente a patógenos bacterianos y virales.

Importante destacar que todos los medios de cultivo utilizados fueron elaborados con agua de mar con salinidad ajustada para 10ppm.

2.2 PURIFICACIÓN DE LAS ESTIRPES

Las estirpes seleccionadas fueron reactivadas en caldo Luria Bertani (LB), Difco e incubación en estufa a 35º C por 24 h. Después de ese período, asadas del material crecido fueron replicadas en la superficie del medio agar PCA (Plate Count Agar, Difco). Una vez verificado el crecimiento, las estirpes fueron sometidas a la coloración de Gram para la confirmación de la morfología, agrupamiento celular y verificación de la pureza de las mismas. Las estirpes fueron divididas en Gram-positivas y Gram-negativas.

2.3 VERIFICACIÓN DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA (F.V.) (SOTO-RODRÍGUEZ *et al*., 2012).

Fue verificada la presencia de las siguientes enzimas extracelulares: elastasa, gelatinasa, caseinasa,lipasa y fosfolipasa. La visualización de un halo transparente en el lugar del inoculo indicó la positividad en las pruebas. Importante destacar que aquellas bacterias que presentaron tres o más factores de virulencia fueron excluidas de los restantes análisis por ser consideradas con mayor potencial de virulencia.

2.4 ESTUDIO DE LA TOLERANCIA A DIFERENTES TEMPERATURAS (ZOKAEIFAR *et al*., 2012).

Las estirpes fueron inoculadas en caldo LB (Difco). Diferentes temperaturas fueron probadas (4ºC e 40ºC). El resultado fue verificado hasta 48h, a través del crecimiento bacteriano en el medio utilizado.

2.5 ESTUDIO DE LA VIABILIDAD BAJO DIFERENTES VALORES DE PH (CAI *et al*., 1999).

Caldo LB (Difco), con diferentes valores de pH (5,0 e 9,0) fueron inoculados e incubados en estufa a 35 ºC por hasta 48h. Fue verificada la viabilidad de las estirpes por turbidez en el medio decultivo.

2.6 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS ESTIRPES SELECCIONADAS PARA LA FORMACIÓN DEL CONSORCIO PROBIÓTICO

Fue realizada la extracción de DNA genómico de las cepas bacterianas, previamente crecidas en caldo LB, con la utilización de un kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega). Para la realización del PCR, fue elaborado un mix para cada muestra (1× tampón, 1,5mMde $MgCl_2$, 200 µM de dNTP, 0,2 µM de Primer L1401, 0,2 µM de Primer U968, 2,5U de Taq DNA polimerasa y 100 ng de DNA),

Las amplificaciones fueron realizadas en termociclador AmpliTherm modelo Veriti® con las siguientes condiciones de termociclaje: un ciclo a 94°C/2min; un ciclo a 94°C/1min; un ciclo 52°C/1min; un ciclo a 72°C/1min y por último un ciclo a 72°C/8min. El volumen final de la reaccin final de PCR fue de 25µL.

Los productos de la extracción de DNA y de la reacción de PCR fueron visualizados a través de la electroforesis en gel de agarosa (1 %) más colorante GelRed para auxiliar en la visualización de las bandas con aplicación de luz ultravioleta en un transluminador (Espectroline-UV). Fue utilizado un marcador molecular de 1kb DNA *ladder* (Sigma) para visualizar el tamaño de los amplicones generados. Los geles fueron documentados en sistema KODAK (EDAS290).

Después de la amplificación de la subunidad 16S rDNA, las muestras fueron encaminadas al Centro de Diagnóstico para las Enfermedades de Organismos Acuáticos (CEDECAM), del Institutode Ciencias del Mar (LABOMAR –UFC) para el secuenciamiento del DNA bacteriano utilizando BigDye® Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit en microplaca de PCR conteniendo 96 pozos. El volumen final de la reacción fue de 10µL: 0,5 X de Big Dye; 3,2 pmol de cada primer (primer 141Ly primer U968); 0,5X de tampón 5X; 0,8µL de muestra PCR. Las condiciones de termociclaje fueron: un ciclo de 96°C / 15s; 40 ciclos de 96°C/15s, 50°C/15s; un ciclo de 50°C/15s; un ciclo de 60°C/4 min y enfriamiento a 4°C. Fue utilizado el secuenciador automático capilar ABI PRISM® 3500 (AppliedBiosystems), conforme metodología descrita por Sanger, Nicklen y Coulson (1977).Los fragmentos amplificados fueron secuenciados a través del análisis de las secuencias obtenidas en cuanto a la calidad de los nucleótidos y la similitud, utilizando el programa MEGA (TAMURA *et al.*, 2013) versión 6 con posterior comparación con las secuencias depositadas en el GenBank (BENSON *et al.*, 2002) utilizando el Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) ((ALTSCHUN *et al.*, 1997).

2.7 PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

El antibiograma fue realizado a través del método de difusión en discos (BAUER; KIRBY; SHERRIN, 1966).

Los antimicrobianos y los valores de corte fueron seleccionados e interpretados (respectivamente) según a orientación técnica dictada por Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 2013). Fueron utilizados los siguientes antimicrobianos: Cloranfenicol 30µg (CLO), Florfenicol 30µg (FLO) y Oxitetraciclina 30µg (OXI), usados en la acuicultura. Los resultados fueron visualizados después de 24 horas de incubación a 35ºC. Después de ese periodo, fue medido el diámetro de los halos de inhibición con el auxilio de un parquímetro digital y los resultados clasificados en resistentes (R), sensibles (S) o intermedios (I).

2.8 PRUEBA DE AGREGACIÓN (CHRISTENSEN *et al.*,1985)

Fue utilizado caldo LB con incubación a 35ºC por 48h. Después de ese período, 200µl de células en suspensión fueron inoculadas en triplicado en microplacas de poliestireno estériles e incubadas en estufa a 35ºC por 48h. Pasado ese tiempo, el inoculo fue descartado y los pozos fueron lavados por tres veces con agua destilada y secados en estufa a 60ºC por 1h. Después de este procedimiento, los pozos fueron coloreados con una solución de cristal violeta 1 % por 1min y lavados sucesivamente con agua destilada y dejar a temperatura ambiente para su secado. La positividad fue indicada por la visualización de un halo con residuo de cristal violeta alrededor de los pozos.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en las pruebas anteriores, fueron formados grupos prioritarios de estirpes para la confirmación de las actividades antagónicas y antibacterianas.

2.9 PRUEBA DE ACTIVIDAD ANTAGONISTA (CHAPMAN, GIBSON Y ROWLAND, 2012)

2.9.1 **Prueba de antagonismo con patógenos a través de la técnica de estrías cruzadas**

Fueron probados los patógenos *V. harvey* (ATCC 14126) y *V. parahaemolyticus* (IOC 17082), los cuales fueron diseminados en una estría central en placas conteniendo agar PCA (Difco). Enseguida, estrías perpendiculares y distantes 5 mm del inoculo central fueron hechas con las diferentes estirpes a ser probadas. El resultado fue observado después de 24-48h de incubación en estufa a 35ºC. La actividad antagónica fue verificada a través de una zona de inhibición entre la estría

central con cada patógeno y la estría de cada estirpe probada.

2.9.2 **Prueba de antagonismo entre las estirpes probadas a través de la técnica de estrías cruzadas**

Las estirpes con resultados positivos en la prueba de antagonismo frente a patógenos fueron sometidas a la prueba por estrías cruzadas. Fue realizado el mismo procedimiento descrito en el ítem anterior (2.9.1) solo entre las estirpes seleccionadas.

3. RESULTADOS y DISCUSIÓN

Del total de estirpes (191) sometidas a la técnica de coloración de Gram, 115 (60,20 %) resultaron ser Gram-positivas en cuanto 76 (39,79 %) resultaron como Gram-negativas.

Estirpes bacterianas G(+) y G(-) aisladas y caracterizadas de camarones marinos han sido utilizadas como probióticos por diferentes autores (FAR *et al.,* 2013; MIRBAKHSH *et al*., 2013). Específicamente, aislamientos bacterianos de *Litopennaeus vannamei* pueden ser utilizados en el mantenimiento de la salud de estos organismos (LUIS-VILLASEÑOR; CAMPA-CÓRDOVA y ASCENCIO-VALLE, 2012) y en el control de patógenos bacterianos (FERREIRA *et al*., 2017).

3.1 FACTORES DE VIRULENCIA

Una vez realizadas las pruebas de virulencia, 64 estirpes presentaron tres o más factores de virulencia por lo que no fueron tomadas en cuenta para sus análisis en las restantes pruebas. No en tanto, 66,49 % de las estirpes fueron evaluadas para la formación del probiótico (Tabla 1).

3.2 TOLERANCIA A LA TEMPERATURA

En relación a la temperatura, la mayor cantidad de estirpes fue capaz de crecer a 40°C. La temperatura de 4°C fue probada buscando la factibilidad en la aplicación de la liofilización como forma de almacenamiento de las estirpes bacterianas en el laboratorio (Tabla 1).

3.3 ESTUDIO DE LA VIABILIDAD BAJO DIFERENTES VALORES DE PH

La variación del pH evaluado (5 y 9) mostró una amplia respuesta positiva por parte de las estirpes bacterianas (Tabla 1).

Tabla 1. Respuestas de las estirpes frente a las diferentes pruebas evaluadas.

	Factores de virulencia (F.V.)				Temperatura			pHs probados		
	Ausencia	1 F.V.	2 F.V.	≥3 F.V.	40°C + 4°C +	40°C + 4°C -	40°C - 4°C +	9 + 5 +	9 + 5 -	9 - 5 +
No. de estirpes	39	42	46	64	57	120	2	168	12	11
Porciento (%)	20,40	21,98	24,08	33,50	29,84	62,82	1,04	87,96	6,28	5,75

Los productos extracelulares tales como: proteasa, elastasa, fosfatasa, lipasa, gelatinasa entre otros, han sido estudiados por diferentes autores en la determinación de la patogenicidad de diferentes estirpes bacterianas (KUMARAN y CITARASU, 2016).

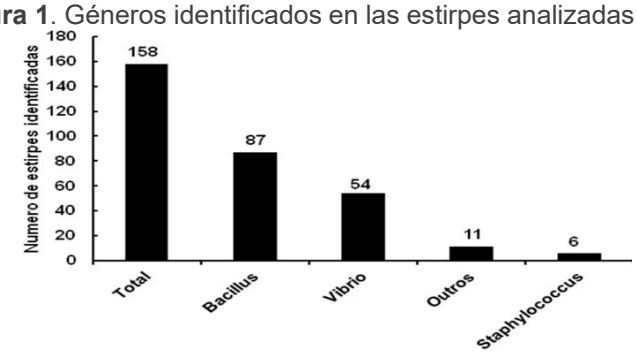
De la misma forma que otros parámetros como la salinidad (ANAND *et al*., 2014) la temperatura y el pH del agua (VINATEA *et al.*, 2010) pueden variar de acuerdo a diferentes condiciones de cultivo por lo que las cepas seleccionadas como posibles probióticos deben resistir a una amplia variación de estos parámetros (VIEIRA *et al*., 2013).

3.4 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

Importante destacar que la identificación molecular de las estirpes mostró una alta similitud (99 %-100 %) para todos los géneros y especies identificadas.

Una vez realizadas los análisis, de un total de 191 estirpes fueron identificadas 158 para 82,72 %.De las cepas identificadas 55,06 % pertenecían al género *Bacillus*, 34,17 % al género *Vibrio*, 6,96 % al género *Staphylococcus* y 3,79 % a otros géneros bacterianos (figura 1). Las 33 estirpes restantes no fueron identificadas por ausencia de similitud con cualquiera de los grupos bacterianos con los que fueron comparados.

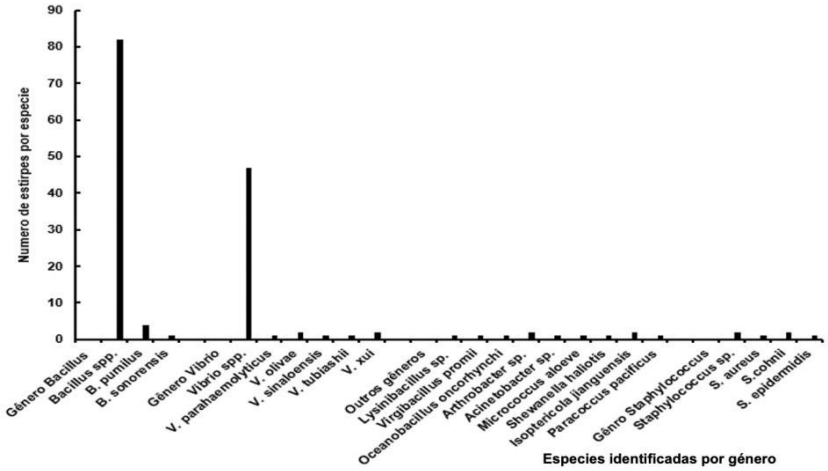
Figura 1. Géneros identificados en las estirpes analizadas.



De los géneros identificados, encabeza la lista el género *Bacillus* con 78 estirpes identificadas como *Bacillus* sp., cinco estirpes (*B. pumilus*) y una especie (*B.*

sonorensis). Del género *Vibrio* fueron identificadas 47 estirpes como *Vibrio* spp., dos estirpes (*V.olivae*), dos estirpes (*V. xui)* y una estirpe de cada una de las siguientes especies: *V. parahaemolyticus*, *V. sinaloensis* y *V. tubiashii* (Figura 2). Dentro de las estirpes bacterianas consideradas como otros géneros fueron identificadas dos estirpes como *Arthrobacter* sp. y dos estirpes como *Isopterícola jianguensis*. Una cepa de cada género fue identificada. Ningún miembro de la familia Enterobacteriaceae fue identificado. El género bacteriano con menor número de representantes fue *Staphylococcus* con seis estirpes bacterianas (Figura 2).

Figura 2. Especies bacterianas identificadas por género.



Bacterias del género *Bacillus* han sido utilizadas como probióticos en ambiente de carcinicultura (FERREIRA *et al*., 2015; FRANCO *et al*., 2016).

Vibrios spp. patogénicos han estado relacionados como agentes causales de diferentes enfermedades en ambiente de carcinicultura (CHEN *et al*., 2016; CHUMPOL *et al.*, 2017).

Bacterias del género *Lysinibacillus* han sido aisladas e identificadas en diferentes fuentes ambientales (GÓMEZ-GARZÓN, HERNÁNDEZ-SANTANA y DUSÁN, 2016; ZOTHANPUIA *et al*., 2016).

Aunque para pez, Hamza *et al.,* 2016 confirmaron la acción de *Virgibacillus promii* y *Bacillus mojavensis* como probióticos para la mejoría de las condiciones del microambiente intestinal del huésped así como, el rendimiento de su crecimiento y sobrevivencia.

Este estudio permitió la identificación de una estirpe bacteriana como *Oceanobacillus oncorhynchi* subsp. *incaldanensis*. Bacterias del género

Oceanobacillus han sido aisladas e identificadas en diferentes fuentes ambientales (NAMWONG *et al*., 2009; LIU y YANG, 2014).

Arthrobacter sp. como probiótico único o en consorcio con otras estirpes bacterianas han sido probadas en diferentes organismos marinos: pez-Bacalao Ártico (*Gadus morhua* L.) (LAUZON *et al*., 2010) y camarones marinos (*Litopennaeus vannamei*) (RAMACHANDRAN *et al*., 2016; XIA, ZHU y ZHANG, 2013).

Acinetobacter sp. fue encontrada entre las cinco especies bacterianas patógenas aisladas de los apéndices torácicos de camarones enfermos (PURIVIROJKUL, 2013).

La acción antagónica de bacterias del género *Micrococcus* contra patógenos en ambiente de acuicultura ha sido reportada en diferentes estudios (AKAYLI *et al*., 2016; BARCENAL, TRAIFALGAR y CORRE, 2015).

Los efectos del uso combinado y simple de *Shewanela haliotis* D4, *Bacillus cereus* D7 y *Aeromonas bivalvium* D15 aisladas del intestino del camarón *Litopenaeus vannamei* y suministradas en la dieta, fueron evaluados por Hao *et al*., 2014. Los resultados de este estudio indicaron que las tres cepas únicas o combinadas podrían tener un rol importante como probióticos para ser utilizadas en ambientes de carcinicultura.

El género *Isoptericola* fue descrito por Stackebrandt, Schumann y Cui, 2004. Actualmente la colección germánica de micro-organismos (DSMZ) presenta siete especies conocidas pertenecientes a ese género (DSMZ, 2020).

Bacterias del género *Paracoccus* han sido aisladas y estudiadas para su uso como potencial probiótico (WANKA *et al*., 2018).

Bacterias del género *Staphylococcus* han sido aisladas en ambiente de acuicultura: *Staphylococcus cohnii* - pez garopa-tigre (*Epinephelus fuscoguttatus*) (NURHIDAYU *et al*., 2012); *Staphylococcus aureus* - camarones capturados en los mares del Golfo Pérsico, Mar de Omán y Océano Índico (ARFATAHERY *et al*., 2015); *Staphylococcus epidermidis* – camarón *Penaeus indicus* (ESAKKIRAJ *et al*., 2010).

3.5 PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

En relación a los antimicrobianos, todas las estirpes (191) presentaron susceptibilidad al cloranfenicol y florfenicol (100 %). En este estudio las estirpes bacterianas mostraron alta resistencia (>50 %) a la oxitetraciclina.

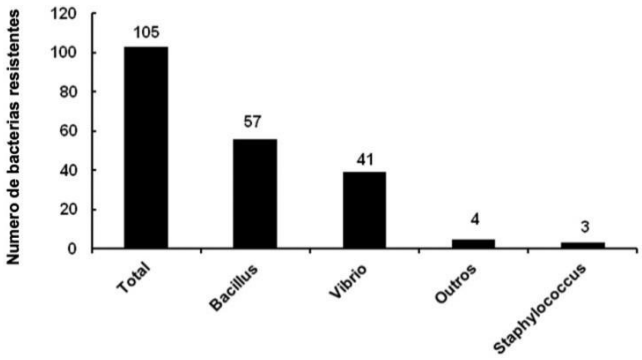
De las 158 estirpes identificadas, 105 estirpes (66,45 %) presentaron resistencia frente a la oxitetraciclina y nueve estirpes (5,08 %) presentaron respuesta

intermedia frente a la oxitetraciclina (tres estirpes pertenecientes al género *Vibrio* y tres estirpes pertenecientes a otros géneros bacterianos, dos estirpes del género *Bacillus* y una estirpe perteneciente al género *Staphylococcus*). Las restantes estirpes identificadas resultaron sensibles a los antimicrobianos evaluados.

El orden de los géneros bacterianos de mayor a menor frecuencia de la resistencia fue la siguiente:

Bacillus > *Vibrio* > Otros géneros > *Staphylococcus* (figura 3).

Figura 3. No. de estirpes resistentes por género bacteriano.



La oxitetraciclina, antimicrobiano de la clase de las tetraciclinas es de amplio espectro que además de ser utilizado en la clínica ha sido utilizado en la veterinaria y la acuicultura para el control de las enfermedades y como promotor del crecimiento (GHOUSE, 2015). Es el antimicrobiano más utilizado en el alimento de camarones y en combinación con otros antimicrobianos (cloranfenicol, ácido oxonílico y formalina) (LAKSHIMI, VISWANATH y SAI GOPAL, 2013).

La presión selectiva ejercida por el uso de este antimicrobiano en diferentes ambientes ha resultado en la diseminación de la resistencia en organismos gram-positivos y gram-negativos a través de la transferencia conjugativa de transposones o plásmidos (CHOPRA y ROBERTS, 2001).

Rebouças *et al.*, 2011 evaluaron los perfiles de resistencia fenotípica de bacterias del género *Vibrio* en muestras de agua de ambiente de carcinicultura y de hepatopáncreas de camarón marino cultivado en dos granjas de cultivo del Estado de Ceará, NE de Brasil. Similar a los resultados encontrados en este estudio, las bacterias del género *Vibrio* resultaron susceptibles al florfenicol y presentaron resistencia a la oxitetraciclina.

Bacterias del género *Vibrio* fueron aisladas de agua y sedimento del estuario de

Acaraú (granja de carcinicultura) en Ceará, Brasil y evaluadas para el perfil de resistencia a los antimicrobianos seleccionados por su uso en la industria del camarón y mecanismos de acción. Tetraciclina y oxitetraciclina fueron antibióticos probados como inhibidores de la síntesis proteica. Fue verificado enlos aislamientos bacterianos del agua y los sedimentos la presencia de cepas resistentes a la oxitetraciclina y tetraciclina (ROCHA, SOUSA y VIEIRA, 2016).

Diferentes géneros bacterianos aislados de ambiente de carcinicultura han sido identificados y evaluados con resistencia a la tetraciclina/oxitetraciclina: *Bacillus (*SUNDARAMANICKAM *et al.,* 2015) y *Aeromonas-Shewanella-Vibrio-Lactococcus* (YANO *et al.,* 2011) entre otros géneros.

Importante destacar que de las cepas identificadas, nueve estirpes (5,08 %) presentaron respuesta intermedia frente a la oxitetraciclina, el resto de las estirpes resultaron sensibles. De las nueve estirpes, dos estirpes pertenecían al género *Bacillus*, tres estirpes del género *Vibrio*, una estirpe al género *Staphylococcus* y tres estirpes pertenecientes a otros géneros bacterianos. Aunque considerado un porciento bajo de estirpes (<25 %) con valores intermedios, este resultado puede ser considerado como una alerta por la posible transferencia a otras bacterias en el ambiente además de indicar una tendencia de la población bacteriana a tornarse resistente a la acción del antimicrobiano, siendo, por tanto, un indicativo de resistencia futura.

3.6 PRUEBA DE AGREGACIÓN

La mayoría de las estirpes (113) para un 59,16 % resultó con agregación negativa y 40,83 % presentaron resultados de agregación positiva (78 cepas).

Tres grupos de estirpes fueron priorizados (70 estirpes) tomando en cuenta los resultados positivos obtenidos en las pruebas precedentes.

Las estirpes bacterianas de estos tres grupos fueron evaluadas en las pruebas de antagonismo frente a patógenos.

Como es conocido, estirpes evaluadas con potencial probiótico poseen propiedades características de cada estirpe y no de un género o aún de una determinada especie (JANKOVIĆ *et al*., 2012). La agregación es una característica necesaria para la adhesión, pre-requisito para la colonización de las células adherentes en el tracto gastrointestinal (KOS *et al*., 2003; RE *et al.*, 2000) por lo que el probar la capacidad de agregación de una estirpe bacteriana es una característica importante y prioritaria para su evaluación como probiótico (JANKOVIĆ *et al*., 2012).

3.7 PRUEBA DE ANTAGONISMO

Ninguna estirpe bacteriana resultó antagónica frente a *Vibrio parahaemolyticus*. De las 70 estirpes bacterianas que formaron parte de los tres grupos prioritarios, 16 estirpes (22,85 %) resultaron antagónicas frente a *Vibrio harvey*. Doce estirpes bacterianas presentaron resultados satisfactorios en la técnica de antagonismo cruzado.

Una de las propiedades más importante de un candidato probiótico es su habilidad de inhibición o antagonismo (BANERJEE y RAY, 2017). El antagonismo es un fenómeno natural que constituye una herramienta aplicable para reducir o eliminar patógenos oportunistas (IBRAHEM, 2015). Los ensayos de antagonismo bacteriano *in vitro*, son utilizados en la selección de probióticos para camarón y así verificar la eficiencia o habilidad para excluir competitivamente al patógeno indeseado (KNIPE *et al*., 2020).

Fueron formados tres consorcios con representantes bacterianos de los géneros *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Isoptericola* y *Shewanella*. Fue verificado para cada estirpe el cumplimiento de los siguientes requisitos:

a. Pertenecer a uno de los tres grupos prioritarios formados (según los resultados obtenidos en las pruebas de virulencia, tolerancia a diferentes temperaturas, viabilidad bajo diferentes valores de pH y agregación).

b. No pertenecer al género *Vibrio*

c. No poseer resistencia frente a los antimicrobianos probados

d. Mostrar actividad antagónica (inhibitoria) frente al patógeno *V. harvey*

e. No presentar antagonismo (inhibición) cruzado entre las estirpes evaluadas

4. CONCLUSIÓN

Bacterias gram-negativas y gram-positivas mostraron características potenciales de probióticos en el camarón, teniendo al género *Bacillus* como principal competidor entre los diferentes géneros evaluados, más otros géneros bacterianos también mostraron características de potencial probiótico para la formación del consorcio.

No existe un protocolo general para la elaboración y aplicación de los probióticos en el camarón marino, más es conocido a nivel internacional que su desarrollo es

considerado un procedimiento de múltiples pasos que valora como etapas claves, el aislamiento, identificación y caracterización de las estirpes que serán utilizadas con ese fin (test *in vitro*). Si bien, es importante este primer paso,las pruebas de las estirpes *in vivo*, cierra el ciclo de pruebas para el establecimiento y aplicación del probiótico para su uso en el camarón marino cultivado por lo que futuros estudios precisan ser realizados para evaluar la eficacia tanto en el organismo cultivado como en su ambiente de cría.

REFERENCIAS

AKAYLI, T.; ALBAYRAK, G.; ÜRKÜ, Ç.; CANAK, Ö.; YÖRÜ, E. **Characterization of *Micrococcus luteus* and *Bacillus marisflavi* recovered from Common Dentex (*Dentex dentex*)larviculture system.** Mediterranean Marine Science, v. 17, n.1, p. 163-169, 2016.

ALTSCHUL, S. F.; MADDEN, T.L.; SCHÀFER, A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D.J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Research, v. 25, n. 17, p. 3389-3402, 1997.

ANAND, P.S.H.; PILLAI, S.M.; KUMAR, S.; PANIGRAHI, A.; RAVICHANDRAN, P.; PONNIAH, A.G.; GHOSHAL, T.K. Growth, survival and length weigth relationship of *Fenneropenaeus merguiensis* at two different stocking densities in low saline zero water exchangebrackishwater ponds. Indian Journal of Geo-Marine Science, v. 43, n.10, p. 1955-1966, 2014.

ARFATAHERY, N., MIRSHAFIEY, A.; ABEDIMOHTASAB, T.P.; ZEINOLABEDINIZAMANI, M. Study of the prevalence of *Staphylococcus aureus* in marine and farmed shrimps in Iran aiming the future development of a prophylactic vaccine. Procedia in Vaccinology, v. 9, p. 44-49, 2015.

BANERJEE, G.; RAY, A.K. The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries. Research in Veterinary Science, v. 115, p.66-77, 2017.

BARCENAL, A.R.B.; TRAIFALGAR, R.F.M.; CORRE, V.L.Jr. Anti-*Vibrio harveyi* Property of *Micrococcus luteus* Isolated from Rearing Water under Biofloc Technology Culture System. Current Research in Bacteriology, v. 8, n. 2, p. 26-33, 2015.

BAUER, A. W.; KIRBY, M. M.; SHERRIN, J. D. Atibiotcs susceptibility testing by standardizedsingle disk method. American Journal of Pathology, v.45, p.493-496, 1966.

BENSON, D.A.; KARSCH-MIZRACHI, I.; LIPMAN, D.J.; OSTELL, J.; RAPP, B.A.; WHEELER, D.L. GenBank. Nucleic Acids Research, v. 30, n. 1, p.17-20, 2002.

BIDHAM, C. De; MEENA, D.K.; BEHERA, B.K.; PRONOB DAS, P.K.; MOHAPATRA, D.; SHARMA, A.P. Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. Fish Physiology and Biochemestry**,** 51 p.,2014.

CAI, Y.; SUYANANDANA, P.; SAMAND, P.; BENNO, Y. Classification and characterization of lactic acid bacteria isolated from the intestines of common carp and freshwater prawns. Journal of General and Applied Microbiology, v. 45, p. 177-184, 1999.

CHAPMAN, C.M.C., GIBSON, G.R., ROWLAND, I. In vitro evaluation of single- and multi-strain probiotics: Inter-species inhibition between probiotic strains, and inhibition of pathogens. Anaerobe, v.18, p. 405-413, 2012.

CHEN, Y-Y.; KITIKIEW, S.; YEH, S-T.; CHEN, J-CH. White shrimp *Litopenaeus vannamei* thathave received fucoidan exhibit a defense against *Vibrio alginolyticus* and WSSV despite their recovery of immune parameters to background levels. Fish & Shellfish Immunology, v. 59, 414e426, 2016.

CHOPRA, I; ROBERTS, M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbiology and Molecular Biology Reviews,v. 65, p. 232-260, 2001.

CHRISTENSEN, G. D.; SIMPSON, W. A.; BISNO, A. L.; BEACHEY, E. H. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. Infection and Immunity,Washington, v. 37, n. 1, p. 318-326, 1985.

CHUMPOL, S.; KANTACHOTE, D.; NITODA, T.; KANZAKI, H. The roles of probiotic purple nonsulfur bacteria to control water quality and prevent acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) for enhancement growth with higher survival in white shrimp (Litopenaeus *vannamei*) during cultivation. Aquaculture, v. 473, p. 327-338, 2017.

CLSI. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-third Informational Supplement: Supplement M100-S20, v. 33, n.1, 205 p., Wayne, PA, USA, 2013.

DSMZ- DEUTSCHE SAMMLUNG von MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN. Disponível em: https://www.dsmz.de/catalogues/catalogue-microorganisms.html#searchResult.Access: 19 de Mayo 2020.

ESAKKIRAJ, P.; RAJKUMARBHARATI, M.; PALAVESAM, A.; IMMANUEL, G. Lipase production by *Staphylococcus epidermidis* CMST-Pi 1 isolated from the gut of shrimp *Penaeus indicus*. Annals of Microbiology, v.60, p. 37-42, 2010.

FAR, H.Z.; SAAD, Ch. R.B.; DAUD, H.M.;KAMARUDIN, M.S.; RAMEZANI-FARD, E. Isolation and Identification of bacteria micro flora of white shrimp, *Litopenaeus vannamei,* with antagonistic properties against *Vibrio* species. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, v.8, n.2, p. 293-300, 2013.

FERREIRA, G.S.; BOLIVAR, N.C.; PEREIRA, S.A.; GUERTLER, C.; VIEIRA, F.N.; MOURIÑO, J.L.P.; SEIFFERT, W.Q. Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, v. 448,p. 273–279, 2015.

FERREIRA, M.G.P.; MELO, F.P.; LIMA, J.P.V.; ANDRADE, H.A.; SEVERI, W.; CORREIA, E.S. Bioremediation and biocontrol of commercial probiotic in marine shrimp culture with biofloc.Latin American Journal of Aquatic Research., v.45, n.1, p. 167-176, 2017.

FOOD and AGRICULTUTRE ORGANIZATION (FAO). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018.* Meeting the sustainable development goals. Rome. 227 p, 2018.

FRANCO R.; MARTÍN L.; ARENAL A.; SANTIESTEBAN D.; SOTOLONGO J.; CABRERA H.; MEJIAS J.; RODRÍGUEZ G.; MORENO A.G.; PIMENTEL E.; CASTILLO N.M. Evaluation of two probiotics used during farm production of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). Aquaculture Research, v. 2016, p. 1-15, 2016.

GHOUSE, M. Use of probiotics as biological control agents in aquaculture for sustainable development. International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences, v. 5, n.1. p. 112-119, 2015.

GÓMEZ-GARZÓN, C.; HERNÁNDEZ-SANTANA, A. DUSSÁN, J. Comparative genomics reveals *Lysinibacillus sphaericus* group comprises a novel species. BMC Genomics, v.17, 709-718,2016.

HAI, N.V. The use of probiotics in aquaculture. Journal of Applied Microbiology, v. 119, p. 917- 935, 2015.

HAMZA, A.; FDHILA, K.; ZOUITEN, D.; MASMOUDI, A.S. *Virgibacillus proomii* and *Bacillus mojavensis* as probiotics in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae: effects on growth

performanceand digestive enzyme activities. Fish Physiology and Biochemestry, v. 42, p. 495–507, 2016.

HAO, K.; LIU, J-Y.; LING, F.; LIU, X-L.; LU, L.; XIA, L.; WANG, G-X. Effects of dietary administration of *Shewanella haliotis* D4, *Bacillus cereus* D7 and *Aeromonas bivalvium* D15, singleor combined, on the growth, innate immunity and disease resistance of shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, v. 428-429, p. 141-149, 2014.

IBRAHEM, D.I. Evolution of probiotics in aquatic world: Potential effects, the current status in Egypt and recent prospective. Journal of Advanced Research, v. 6, p. 765-791, 2015.

JANKOVIĆ, T.; FRECE, J.; ABRAM, M.; GOBIN, I. Aggregation ability of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. International Journal of Sanitary Engineering Research, v. 6, n.1,p. 19-24, 2012.

KNIPE, H.; TEMPERTON, B.; LANGE, A.; BASS, D.; TYLER, Ch. Probiotics and competitive exclusion of pathogens in shrimp aquaculture. Reviews in Aquaculture, p. 1-29, 2020.

KOS, B.; ŠUŠKOVIĆ, J.; VUKOVIĆ, S.; ŠIMPRAGA, M.; FRECE, J.; MATOŠIĆ, S. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus* acidophilus M92. Journal of Applied Microbiology, v. 94, p. 981-987, 2003.

KUMARAN, T.; CITARASU, T.; Isolation and characterization of Vibrio Species from shrimp andartemia culture and evaluation of the potential virulence factor. Intellectual Property Rights, vol. 4,issue 1, 5 p. 2016.

LAKSHMI, B.; VISWANATH, B.; SAI GOPAL, D.V.R. Probiotics as Antiviral Agents in Shrimp Aquaculture. Journal of Pathogens, v.2013, 13 p., 2013.

LAUZON, H.L.; GUDMUNDSDOTTIR, S.; STEINARSSON, A.; ODDGEIRSSON, M.; MARTINSDOTTIR, E.; GUDMUNDSDOTTIR, B.K. Impact of probiotic intervention on microbial load and performance of Atlantic cod (*Gadus morhua L.*) juveniles. Aquaculture, v. 310,p. 139–144, 2010.

LAZADO, C.C.; CAIPANG, C.M.A. Atlantic cod in the dynamic probiotics research in aquaculture. Aquaculture, v. 424–425, p. 53-62, 2014.

LIU, W.; YANG, S.Sh. *Oceanobacillus aidingensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium. Antonie van Leeuwenhoek, v. 105, p. 801–808, 2014.

LUIS-VILLASEÑOR, E.I.; CAMPA-CÓRDOVA, A.I.; ASCENCIO-VALLE, F.J. Probiotics in Larvae and Juvenile Whiteleg Shrimp *Litopenaeus vannamei*. Chapter 27, Intech. Open Access Publisher, p. 601-622, 2012.

MIRBAKHSH, M.; AKHAVANSEPAHY, A.; AFSHARNASAB, M.; KHANAFARI, A.; RAZAVI, M.R.Screening and evaluation of indigenous bacteria from the Persian Gulf as a probioticand biocontrol agent against *Vibrio harveyi* in *Litopenaeus vannamei* post larvae. Iranian Journal of Fisheries Sciences, v.12, n.4, p. 873- 886, 2013. NAMWONG, S.

TANASUPAWAT, S.; LEE, K. CH.; LEE, J-S. *Oceanobacillus kapialis* sp. nov., from fermented shrimp paste in Thailand.International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 59, p. 2254–2259, 2009.

NEWAJ-FYZUL, A.; AL-HARBI, A.H.; AUSTIN, B. Review: Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. Aquaculture, v. 31, p. 1-11, 2014.

NURHIDAYU, A.;INA-SALWANY, M.Y.; DAUD, H.M.; HARMIN, S.A. Isolation, screening and characterization of potential probiotics from farmed tiger grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*). African Journal of Microbiology Research, v. 6, n. 9, p. 1924-1933, 2012.

PURIVIROJKUL, W. Application of Probiotic Bacteria for Controlling Pathogenic Bacteria in Fairy Shrimp *Branchinella thailandensis* culture.Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,v.13, p.187-196, 2013.

RAMACHANDRAN, K.; ELAYAPERUMAL, G.; MISHRA, S.; RAMALINGAM, K.; VANITHA, M.C. Beneficial microbes as probiotics on aquaculture to bring sustainability in blue revolution. International Journal of Recent Scientific Research, v. 7, p. 14606-14612, 2016.

RE, B.; SGORBATI, B.; MIGLIOLI, M.; PALENZONA, D. Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. Letters in Applied Microbiology, v. 31, p.438-442, 2000.

REANTASO, M.B. *FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome, Italy.* Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND): A Game Changer in Aquaculture. FAO AquacultureNewletter, no. 55, p. 50-51, 2016.

REBOUÇAS, R.H.; SOUSA, O.V.; LIMA, A.S.; VASCONCELOS, F.R.; CARVALHO, P.B.; VIEIRA, R.H.S.F. Antimicrobial resistance profile of Vibrio species isolated from marine shrimp farming environments (*Litopenaeus vannamei*) at Ceará, Brazil. Environmental Research, v. 111, p. 21–24, 2011.

ROCHA, R.S.; SOUSA, O.V.;VIEIRA, R.H.S.F. Multidrug-resistant Vibrio associated with an estuary affected by shrimp farming in Northeastern Brazil. Marine Pollution Bulletin, v.105, p. 337-340, 2016.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 74, n. 12, p. 5463-5467, 1977.

SOTO-RODRIGUEZ, S.A.; GOMEZ-GIL, B.; LOZANO, R.; RIO-RODRÍGUEZ, R.; DIÉGUEZ, A.L.; ROMALDE, J,L. Virulence of *Vibrio harveyi* responsible for the ‘‘Bright-red’’ Syndrome in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Journal of Invertebrate Pathology, v. 109, p. 307–317, 2012.

STACKEBRANDT, E., SCHUMANN, P.; CUI, X-L. Reclassification of *Cellulosimicrobium variabile* Bakalidou *et al*. 2002 as *Isoptericola variabilis* gen. nov., comb. nov. International Journalof Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 54, p. 685–688, 2004.

SUNDARAMANICKAM, A.; KUMAR, P.S.; KUMARESAN, S.; BALASUBRAMANIAN, T. Isolation and molecular characterization of multidrug-resistant halophilic bacteria from shrimp farm effluents of Parangipettai coastal waters. Environmental Science and Pollution Research, v.22, p. 11700-11707, 2015.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S.MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis; version 6.0. Molecular Biology and Evolution., Chicago, v.30,n.12 p. 2725-2729, 2013.

VERSCHUERE, L.; Rombaut, G.; Sorgeloos P.*et al*. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Reviews, v. 64, n.4, p. 655-671, 2000.

VIEIRA, F.N.; JATOBÁ, A.; MOURIÑO,J.L.P.; VIEIRA, E.A.; SOARES, M.; SILVA, B.C.;SEIFFER, W.Q.; MARTINS, M.L.; VINATEA, L.A. In vitro selection of bacteria with potential for use as probiotics in marine shrimp culture. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, Brasilia,v.48, n.8, p. 998-1004, 2013.

VINATEA, L.; GÁLVEZ, A.O.; BROWDY, C.L.; STOKES, A.; VENERO, J.; HAVEMAN, J.; LEWIS, B.L.; LAWSON, A.; SHULER, A.; LEFFLER, J.W. Photosynthesis, water respiration andgrowth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero waterexchange: Interaction of water quality variables. Aquacultural Engineering, v. 42, p. 17-24, 2010.

WANKA, K.M.; DAMERAU, T.; COSTA, B.; KRUEGER, A.; SCHULZ, C.; WUERTZ, S. Isolation and characterization of native probiotics for fish farming. BMC Microbiology, v. 18, 13 p., 2018.

XIA, Z.; ZHU, M.; ZHANG, Y. Effects of the probiotic *Arthrobacter* sp. CW9 on the survival andimmune status of white shrimp (*Penaeus vannamei*). Letters in Applied Microbiology, v. 58, p. 60-64, 2013.

YANO, Y.; HAMANO, K.; SATOMI, M.; TSUTSUI, I.; AUE-UMNEOY, D. Diversity and characterization of oxytetracycline-resistant bacteria associated with non-native species, white-legshrimp (*Litopenaeus vannamei*), and native species, black tiger shrimp (*Penaeus monodon*),intensively cultured in Thailand. Journal of Applied Microbiology, v. 110, p. 713-722, 2011.

ZOKAEIFAR, H.; BALCÁZAR, J.L.; KAMARUDIN, M.S.; SIJAM, K.; ARSHAD,A.; SAAD, Ch.R. Selection and identification of non-pathogenic bacteria isolated from fermented pickles withantagonistic properties against two shrimp pathogens. The Journal of Antibiotics, v.65, p. 289-294,2012.

ZOTHANPUIA, PASSARI, A.K.; GUPTA, V.K.; SINGH, B.P. Detection of antibiotic-resistant bactéria endowed with antimicrobial activity from a freshwater lake and their phylogenetic affiliation. PeerJ, v. 4, e2103, 2016.

CAPÍTULO 10

STANDARDIZATION OF THE CULTIVATION OF THE ISOLATED FILAMENTOUS FUNGUS A4 FORLIPASE PRODUCTION

Tatiana P. Costa
Mestre em Biocombustíveis. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) *campus* JK, Diamantina, MG, Brasil.
Endereço: Rua dos Garimpeiros, número 25, Bairro Centro. CEP 39130-0
E-mail: tatianaufvjm@hotmail.com

Paula V. D. Spencer
Mestre em Biocombustíveis. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM)campus JK, Diamantina, MG, Brasil.
Endereço: Rodovia MGT 367 - Km 583, nº 5.000. Alto da Jacuba. CEP 39100-000
E-mail: paulavillela88@hotmail.com

Mirian J. Souza
Mestre em Biocombustíveis. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM)campus JK, Diamantina, MG, Brasil.
Endereço: Rua do Progresso, nº 262, Bairro. Distrito Senador Mourão, Diamantina. CEP 39112-000
E-mail: miriansouzajs@gmail.com

Adeline C. P. Rocha
Mestre em Biocombustíveis. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM)campus JK, Diamantina, MG, Brasil.
Endereço: Rua Getúlio Vargas, número 409. Bairro Vila Operária. CEP39100-000
E-mail: linedtna@hotmail.com

David L. Nelson
Doutor. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) campus JK, Professor Visitante do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis, Diamantina, MG, Brasil.
Endereço: Rodovia MGT 367 - Km 583, nº 5.000. Alto da Jacuba. CEP 39100-000
E-mail: dleenelson@gmail.com

Nísia A. V. D. Pinto
Doutora. Docente da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) *campus* JK, Curso de Nutrição, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Diamantina, MG, Brasil.
Endereço: Rodovia MGT 367 - Km 583, nº 5.000. Alto da Jacuba. CEP 39100-000
E-mail: nisia.villela@ufvjm.edu.br

Vivian M. Benassi
Doutora. Docente da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) *campus* JK, Instituto de Ciência e Tecnologia, Diamantina, MG, Brasil.
Endereço: Rodovia MGT 367 - Km 583, nº 5.000. Alto da Jacuba. CEP 39100-000
E-mail: vivian.benassi@ufvjm.edu.br

ABSTRACT: Lipases are produced by microorganisms to form an important biotechnological group of enzymes with different properties and specificities. Among the lipase-producing microorganisms are the filamentous fungi, which are abundant and widespread in nature. Because of their catalytic versatility, lipases are highly commercialized, being applied mainly in the production of detergents, food, animalfeed, paper and cellulose, pharmaceutical and biodiesel industries. This work sought to select a filamentous fungus that produces lipases and optimize the conditions for cultivation so as to increaselipolytic activity. Initially, 21 filamentous fungi were grown in a solid medium for lipases for four days in a bacteriological incubator at 30 ºC. The fungus with the largest halo representing lipase activity was incubated in five different submerged media at 30 ºC for eight days, and the lipase activity of crude extracellular enzyme extracts was evaluated every 24 hours. After defining the culture medium, its composition was varied, analyzing different sources of nitrogen, salt solutions, the influence of the initial pH of the medium and the carbon source. The isolated fungus, identified as A4, exhibited promising lipase synthesis in Khanna submerged culture medium containing urea, peptone and KNO_3 as the nitrogen source, Vogel salts solution, initial pH of 4.5 and cotton oil as a carbon source. This work demonstrated the importance of standardizing chemical conditions for the growth and production of lipases from filamentous fungi, thereby contributing to a greater understanding of the lipases produced by the selection of the fungus with a potential for enzyme production.

KEYWORDS: Enzymes, Filamentous fungus, Biotechnology

RESUMO: Lipases são produzidas por micro-organismos, formando um importante grupo biotecnológico de enzimas com diversas propriedades e especificidades. Dentre os micro-organismos produtores de lipases estão os fungos filamentosos, abundantes e amplamente difundidos na natureza. Devido a suaversatilidade catalítica, as lipases são altamente comercializadas, sendo aplicadas, principalmente, na produção de detergentes, alimentos, ração animal, papel e celulose, indústrias farmacêuticas e biodiesel. Este trabalho objetivou selecionar um fungo filamentoso produtor de lipases e otimizar ascondições de cultivo do mesmo, visando o aumento da atividade lipolítica. Inicialmente, 21 fungos filamentosos foram cultivados em meio sólido para lipase durante quatro dias à 30 ºC em estufa bacteriológica. O fungo que apresentou maior halo de atividade de lipase foi incubado em cinco distintos meios submersos à 30 ºC, durante oito dias, sendo avaliada a atividade de lipases dos extratosbrutos enzimáticos extracelulares a cada 24 horas. Após definir o meio de cultivo, variou-se sua composição, analisando diferentes fontes de nitrogênio, solução de sais, a influência do pH inicial domeio e a fonte de carbono. O fungo isolado, identificado como A4, foi o que apresentou promissora síntese de lipases em meio de cultura submerso Khanna contendo ureia, peptona e KNO_3 como fontenitrogenada, solução de sais Vogel, pH inicial 4,5 e óleo de algodão como fonte de carbono. Esse trabalho demostrou a importância da padronização das condições químicas para o crescimento e produção de lipases a partir de fungos filamentosos, contribuindo para um maior entendimento das lipases produzidas pela seleção do fungo com potencial para a produção enzimática.

PALAVRAS-CHAVE: Enzimas, Fungo filamentoso, Biotecnologia

1. INTRODUCTION

Lipases (EC 3.1.1.3) are classes of hydrolytic enzymes that act as important biotechnological catalysts. They act both at the organic-aqueous interface, catalyzing triglyceride hydrolysis reactions, and in the presence of low concentrations of water. These versatile characteristics make these enzymes highly desirable in various chemical syntheses (BHARATHI and RAJALAKSHMI, 2019; SILA *et al*., 2020).

Lipases are synthesized by various living organisms, including animal, plant and microbial cells. However, the enzymes of filamentous fungi have many advantages over the other sources mentioned, such as lower production cost, catalytic activity under extreme conditions, enantioselectivity, broad specificity for the substrate and stability in organic solvents, in addition to offering a wide spectrum of physical-chemical characteristics (PEREIRA *et al*., 2014; FACCHINI *et al*., 2016; PHUKON *et al*., 2020).

After proteases and amylases, lipases are considered to be the third most important group of enzymes on the market. This fact is probably related to the attractive versatility of these enzymes for industrial applications, mainly in the production of detergents, food, animal feed, paper and cellulose, and in pharmaceutical and biodiesel industries (KORMAN *et al*., 2013; ALMEIDA *et al.*, 2020). In the production of biodiesel, factors such as the use of milder reaction conditions, better adaptation to the raw material and reduction in processing steps have made this biocatalysis one of the most widely studied routes to meet the growing demand of this biofuel (LI *et al*., 2020; ZHONG *et al*., 2020).

Thus, the wide technological application and specificity of lipases has aroused greater interest in the search for new strains of microorganisms that produce this enzyme. The optimization of cultivation conditions, combined with the choice of appropriate microorganism strains, can lead to greater production of enzymes, in addition to reducing costs, which is extremely advantageous for their commercialization (CARVALHO, 2007). The objective of this work was the selection of a filamentous lipase-producing fungus with interesting characteristics for industrial application, in addition to optimizing the cultivation conditions of the isolated fungus so as to increase the lipolytic activity.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 SELECTION OF FILAMENTOUS-FUNGI-PRODUCING LIPASES IN SOLID CULTUREMEDIUM

Twenty-one filamentous fungi isolated from different materials collected in different locationsin the state of Minas Gerais were analyzed. The microorganisms identified as 4.2, 4.3 (SANTOS, 2017), 3.5TA and 3.8TA (ROSA; MARINHO; BENASSI, 2017) were isolated from the sugarcane bagasse in the city of Jaíba, MG, Brazil. The microorganism identified as B8 was isolated from samples of the coconut leaf straw from the city of Porteirinha, MG, Brazil (SILVA, 2017). The filamentous fungus identified as A4 was isolated from a soil sample in the city of Diamantina, MG, Brazil.

The filamentous fungi identified as EA138 (NOGUEIRA, 2018) and C333 (CARVALHO and SILVA, 2018) were isolated from a decomposing leaf, and the microorganisms identified as C421, C433 and C441 (CARVALHO and SILVA, 2018) were isolated from a fragment of decomposing jeans, all in the city of Diamantina. The microorganism identified as L2 (SILVA, 2018) was isolatedfrom a plum sample; the M1.1, M1.4 and M1.5 fungi were isolated from bark samples, and those identified as M2.3 and M2.5 were isolated from fruit peelings, all located in the city of Janaúba, MG, Brazil (SOUZA, 2017).

The MB2.4, MB2.9 and MB2.12 fungi were isolated from sea water and sand in the Regência district of the city of Linhares, ES, Brazil (OLIVEIRA, 2019). Finally, the fungus identified as P3 was isolated from a moist coconut shell covered with soil in the city of Serranópolis de Minas, MG,Brazil (LOPES, 2017) (Table 1).

The selection of filamentous, lipase-producing fungi utilized the method described by Hankin & Anagnostakis (1975), where all the fungi were punctually inoculated in the center of the Petri dish,in previously sterilized, solid culture medium for lipases containing Potato-Dextrose-Agar (BDA) (20 gL^{-1}), peptone (10 gL^{-1}), sodium chloride (5 gL^{-1}), calcium chloride (2 gL^{-1}) and Tween 80 (10 $mL.L^{-1}$) incubated in a bacteriological incubator at 30 °C for four days. The radius (cm) of thecolony was measured, and the fatty acids released by hydrolysis in Tween 80 were identified by application of 2 mL of the developing solution (0.1 M NaOH and 2 % phenolphthalein) and measuring the halo (cm) of the free fatty acids.

Table 1. The local and sample from which the filamentous fungi were isolated.

Filamentous fungus	Source of the fungus	Source city
A 4	Soil	Diamantina, MG
4.2	Sugar cane bagasse	Jaíba, MG
4.3	Sugar cane bagasse	Jaíba,MG
B8	Coconut leaf straw	Porteirinha, MG
C333	Decaying leaf	Diamantina, MG
C421	Decaying jeans	Diamantina, MG
C433	Decaying jeans	Diamantina, MG
C441	Decaying jeans	Diamantina, MG
EA138	Decaying leaf	Diamantina, MG
L2	Plum	Janaúba, MG
MB2.4	Sea sand and water	Linhares, ES
MB2.9	Sea sand and water	Linhares, ES
MB2.12	Sea sand and water	Linhares, ES
M1.1	Tree bark	Janaúba, MG
M1.4	Tree bark	Janaúba, MG
M1.5	Tree bark	Janaúba, MG
M2.3	Fruit peel	Janaúba, MG
M2.5	Fruit peel	Janaúba, MG
P3	Dirt-covered moist coconut shell	Serranópolis de Minas, MG
3.5TA	Sugar cane bagasse	Jaíba, MG
3.8TA	Sugar cane bagasse	Jaíba, MG

2.2 MAINTENANCE OF FILAMENTOUS FUNGI

The strains were stored on Dinâmica® silica gel according to the method described by Michelin(2009), where a spore suspension was prepared from 2 mL of powdered milk (200 $g.L^{-1}$ of autoclaved distilled water). From this suspension, and aliquot of approximately 1 mL was added to test tubes containing 7 g of silica gel and stirred. These tubes were sealed and stored at 4 ºC. The filamentous fungi were cultured in test tubes, 15 cm x 5 cm, containing 4 % Quaker® solid oat medium (w/v) and2 % Bacteriological Agar (w/v) (EMERSON, 1941), which were incubated in a

bacteriological incubator at 30 ºC, and, stored in a refrigerator at 4 ºC after growth of the fungi.

2.3 INOCULUM

The tubes containing the selected filamentous fungus were suspended in 10 mL of previouslyautoclaved distilled water. One-mL aliquots (616,104 spores) of the spore suspension were inoculatedin 125 mL Erlenmeyer flasks containing 25 mL of submerged culture medium.

2.4 OBTAINING MYCELIUM FROM THE FUNGUS AND CRUDE EXTRACELLULARENZYME EXTRACT

After the growth of the fungus, the mycelium was separated from the crude enzyme extract by vacuum filtration. After drying, the mycelium was weighed on an analytical balance, and the crudeextracts were subjected to the measurement of volume (mL), final pH and lipolytic activity.

2.5 DETERMINATION OF LIPASE ACTIVITY

The reactions were accomplished with 3 mL of the substrate that contained ABC® Olive Oil(Lot: 1712358) and Tween 80 in the proportion of 1:1 (v/v) and 3 mL of the crude enzyme extract. Initially, the tubes containing only the substrate were kept in a water bath at 40 ºC for two minutes. The crude enzyme extract was inserted, and 1-mL aliquots of the mixture were removed at 0 and 15minutes. The aliquots were poured into 1 mL of acetone: ethanol solution (1:1) to interrupt the reaction. The fatty acids produced were titrated with a standard aqueous solution of 0.02 M NaOH using phenolphthalein indicator. The enzymatic activity was calculated according to Equation 1 (BARON, 2008):

$$A = \frac{\Delta V_{NaOH} \times [NaOH]}{t \times V_E} \quad \text{(Equação 1)}$$

Where:

A = Enzymatic activity ($U.mL^{-1}$);

ΔV NaOH = Difference in the volume of NaOH (mL) used in the titration in the time of 15 minutesin relation to the volume of time zero;

[NaOH]: NaOH concentration ($\mu mol.mL^{-1}$);

t: reaction time in minutes (min);

V_E: volume of the enzyme solution (mL).

2.6 ANALYSIS OF DIFFERENT CULTURE MEDIA AND GROWTH TIMES OF THE FUNGUSFOR THE PRODUCTION OF LIPASES

The cultures were obtained by inoculating 1 mL of the spore suspension of the selected fungusin 25 mL of the submerged culture media: (1) Adams (ADAMS, 1990); (2) Khanna with modifications of the salt solution by the exclusion of NH_4NO_3 (KHANNA; SUNDARI; KUMAR, 1995); (3) Vogel with modification of the salt solution by excluding NH_4NO_3 and $Na_2MoO_4.H_2O$ and the biotin solution (VOGEL, 1964); and (4) SR modified by the exclusion of $NH_4H_2PO_4$ (RIZZATTI et al., 2001). All the media contained ABC® Olive Oil as a carbon source. The cultures were kept in a bacteriological incubator for eight days at 30 ºC, and the fungal growth and enzymatic activity were measured every 24 hours to determine the day on which the growth of the microorganism and the production of lipases were the greatest.

2.7 EVALUATION OF THE EFFECT OF DIFFERENT NITROGEN SOURCES ON THE CULTURE MEDIUM FOR THE CULTIVATION OF THE ISOLATED FUNGUS A4 AND THE PRODUCTION OF LIPASES

The selected fungus was grown in modified Khanna medium containing ABC® Olive Oil asa carbon source, and the nitrogen source was varied: 0.1 % yeast extract, 0.1 % peptone, 0.1 % potassium nitrate, 0.1 % urea and their respective combinations. The medium without a nitrogen source was used as a control. The strains were kept in a bacteriological incubator for five days at 30 °C. After the incubation time, the media were filtered to separate the mycelial mass from the extracellular crude extract containing the enzymes.

2.8 EVALUATION OF DIFFERENT SALT SOLUTIONS FROM THE CULTURE MEDIUM FOR THE PRODUCTION OF LIPASES FROM THE ISOLATED FILAMENTOUS FUNGUS A4

The selected fungus was grown in modified Khanna culture medium containing ABC® OliveOil as a carbon source, and the source of the culture salts was varied. They were 5 mL of Khanna salts solution, 5 mL of SR salts solution, 5 mL of CP salts solution, 5 mL of Vogel salts solution, andthe combinations of these solutions. The control did not contain salts. The media were kept in a bacteriological incubator for five days at 30 ºC. After the incubation time, the media were filtered toseparate the mycelial mass from the extracellular crude extract containing the enzymes.

2.9 DETERMINATION OF THE IDEAL INITIAL PH OF THE CULTURE MEDIUM FOR THE PRODUCTION OF LIPASES

The initial pH of the modified Khanna culture medium containing a solution of Vogel salts; urea, peptone and KNO_3 as a nitrogen source; and ABC® Olive Oil as a carbon source was analyzedto determine the appropriate pH for the production of lipase. The initial pH of the culture medium was varied from 4.0 to 6.0, with intervals of 0.5. After inoculation of the fungus in the media, they were maintained n a bacteriological incubator for five days at 30 ºC. After incubation, the media were filtered to separate the mycelial mass from the extracellular crude extract containing the enzymes.

3.0 EVALUATION OF THE EFFECT OF DIFFERENT CARBON SOURCES ON THE CULTURE MEDIUM FOR THE PRODUCTION OF LIPASES

The modified Khanna submerged culture media with Vogel salts solution were prepared containing urea, peptone and KNO_3 as a nitrogen source and an initial pH of 4.5. The carbon sourceswere varied at the concentration of 1 % (m/v): canola oil (Sinhá®), palm oil (Temperatta®), soy oil (ABC®), corn oil (Sinhá®), sunflower oil (Sinhá®) and cotton oil (Flor de cotton®). The control was the medium containing ABC® Olive Oil. The growth occurred in a bacteriological oven withoutstirring at 30 ºC for five days. After incubation, the media were filtered to separate the mycelial mass from the extracellular crude extract containing the enzymes, and the lipolytic activity was determined.

3. RESULTS AND DISCUSSIONS

3.1 SCREENING OF LIPASE-PRODUCING FILAMENTOUS FUNGI

Twenty-one filamentous fungi identified were analyzed for lipase production, and the 16 fungiidentified as A4; 4.2; 4.3; C421; EA138; L2; MB2.12; MB2.4; MB2.9; M1.1; M1.4; M1.5; M2.3; M2.5; P3; 3.5TA and 3.8TA grew in the lipase-specific culture medium. However, the strains B8,C333; C441; C433 and 3.8TA did not grow (Table 2).

The lipolytic activity of these microorganisms was determined, and halos of lipase activity were observed only for fungi A4 and M1.1 (.5 cm and 0.3 cm, respectively). Larger growth zones of 6.5 cm, 6.2 cm and 4.6 cm, respectively, were observed for the strains MB2.12, P3 and M2.3. However, no halo of lipolytic activity were obtained (Table 2). The growth of microorganisms in theculture media without the

production of extracellular lipases is possibly due to the fact that other nutritional sources favorable to the development of fungi exist in the medium, such as potato starch,dextrose and peptone.

It is known that each species of microorganism produces a characteristic enzyme pool. However, the absolute and relative quantities of these enzymes varies considerably, not only from one species to another, but also between different strains of the same species (MICHELIN, 2009). The isolated fungus A4 was selected for this work.

Table 2. Fungal growth halo (cm) and enzyme halo (cm) produced by filamentous fungi incubated for four days at 30 ºCin a bacteriological incubator in solid culture medium for lipases.

Fungus	Growth halo (cm)	Lipase halo (cm)
A4	2.7 ± 0.01	0.5 ± 0.01
4.2	2.5 ± 0.01	-
4.3	2.5 ± 0.02	-
B8	-	-
C333	-	-
C421	1.8 ± 0.03	-
C433	-	-
C441	-	-
EA138	3.6 ± 0.01	-
L2	2.7 ± 0.01	-
MB2.4	4.3 ± 0.01	-
MB2.9	4.0 ± 0.02	-
MB2.12	6.5 ± 0.02	-
M1.1	2.6 ± 0.03	0.3 ± 0.01
M1.4	0.9 ± 0.03	-
M1.5	2.3 ± 0.01	-
M2.3	4.6 ± 0.01	-
M2.5	3.0 ± 0.03	-
P3	6.2 ± 0.01	-
3.5TA	1.5 ± 0.02	-
3.8TA	-	-

The symbol **"–"** indicates that no growth occurred.

According to Gupta *et al.* (2003), a screening of lipase-producing microorganisms performed on plates containing solid agar wtith olive oil culture medium is efficient for identifying lipase- producing colonies. Lima (2003), in a similar experiment, selected three fungal strains out of a total of thirty-six, a number close to those observed in our study; and eleven bacterial strains were also selected as lipase producers. Colen, Junqueira and Moraes-Santos (2006) observed that lipolytic halos were obtained for twenty-five of the fifty-nine fungal strains isolated from the Brazilian Savannah, data superior to those observed in our study.

3.2 DETERMINATION OF THE CULTURE MEDIUM FOR THE CULTIVATION OF THE ISOLATED FILAMENTOUS FUNGUS A4 AND ANALYSIS OF THE FUNGAL GROWTH TIME FOR THE PRODUCTION OF LIPASES

Initially, four media were selected to verify the best nutrient composition to induce lipase production. The largest production of lipases by the A4 fungus was observed in the modified Khannaculture medium with a total activity of 2.32 U total on the fifth day of growth, followed by the modified Vogel medium with a total lipolytic activity of 2.19 U on the third day of cultivation of thefungus, and Adams medium with 2.01 U total on the fourth day of cultivation. The lowest enzymaticactivity was obtained with the SR medium after five days of cultivation of the A4 fungus with a totalactivity of 1.14 U at 30 ºC (Figure 1). Therefore, the Khanna medium was chosen to continue the optimization process.

The incubation time of a microorganism has a direct influence on the production of enzymes.Incubation for a short period might not result in maximum production of the enzyme of interest. Likewise, cultivation for a long period can lead to the depletion of nutrients and a decline in enzymeproduction, in addition to cell death. Thus, each microorganism has its ideal growth time for the production and secretion of lipases, which can also be influenced by the conditions of cultivation andcomposition of the culture medium (VICI, 2008).

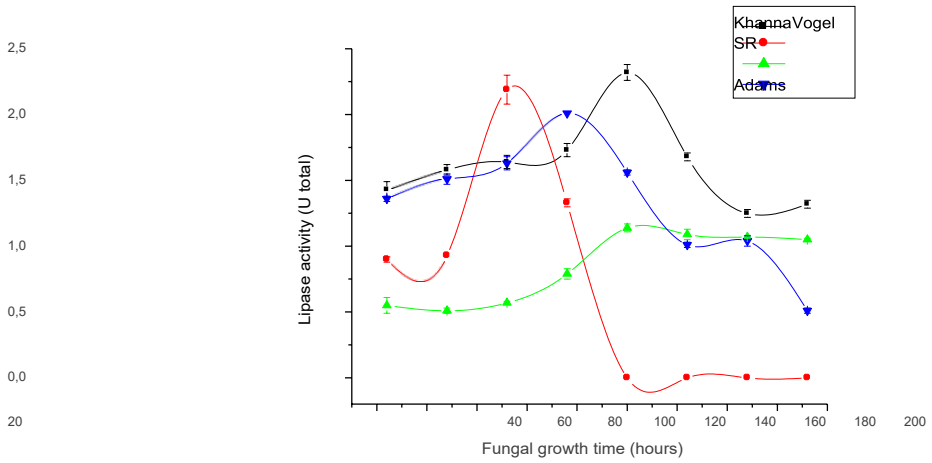
The A4 fungus secreted greater quantities of lipases after five days of cultivation, a result similar to those obtained in the studies by Bancerz, Ginalska and Fiedurek (2005), D'Annibale *et al.*(2006) and Messias *et al.* (2009), who cultivated *P. chrysogenum*, *Candida cylindracea* and *Botryosphaeria sp*, respectively, for the production of lipases. Their results are similar to those described by Hiol *et al.* (2000), who recorded four days as the best cultivation time for the production and secretion of lipases from the fungus *Rhizopus oryzae* in a culture medium containing 4 %

macerated corn liquor, 1 % peptone, 1.4 % KH_2PO_4, 0.24 % K_3PO_4 and 0.04 % $MgSO_4$ at 28 ºC.

In a similar study, Lima et al. (2013) isolated *Aspergillus* strains from the caatinga soil of the state of Pernambuco and observed a greater production of lipases in a medium composed of olive oil(30 $mL.L^{-1}$), peptone (70 $g.L^{-1}$), $NaNO_3$ (1 $g.L^{-1}$), KH_2PO_4 (1 $g.L^{-1}$), and $MgSO_4.7H_2O$ (0.5 $g.L^{-1}$) at

pH 7.0. The maximum lipase production observed by an *Aspergillus* strain was 22.64 $U.mL^{-1}$ in 120hours, whereas another *Aspergillus* strain produced 26.52 $U.mL^{-1}$ in 144 hours. Rajendran et al. (2008) optimized the composition of the medium for the production of lipase by *Candida rugosa.* The medium contained glucose (20 $g.L^{-1}$), olive oil, peptone and $FeCl_3.6H_2O$, and the maximum lipase activity was 3.8 $U.mL^{-1}$ in a 50-hour culture at 30 °C, pH 6.8 , with stirring at 120 rpm.

Figure 1. Determination of the culture medium and growth time of the A4 isolated fungus for lipase production.



3.3 DETERMINATION OF NITROGEN SOURCES IN THE CULTURE MEDIUM FOR THE GROWTH OF THE A4 ISOLATED FILAMENTOUS FUNGUS AND ENZYME PRODUCTION

The effects of organic nitrogen sources (urea, peptone and yeast extract) and inorganic nitrogen(potassium nitrate) can be seen in Figure 2. Some extracellular enzymatic activity was observed for all the nitrogen sources analyzed: yeast extract, peptone, potassium nitrate, urea and their combinations.

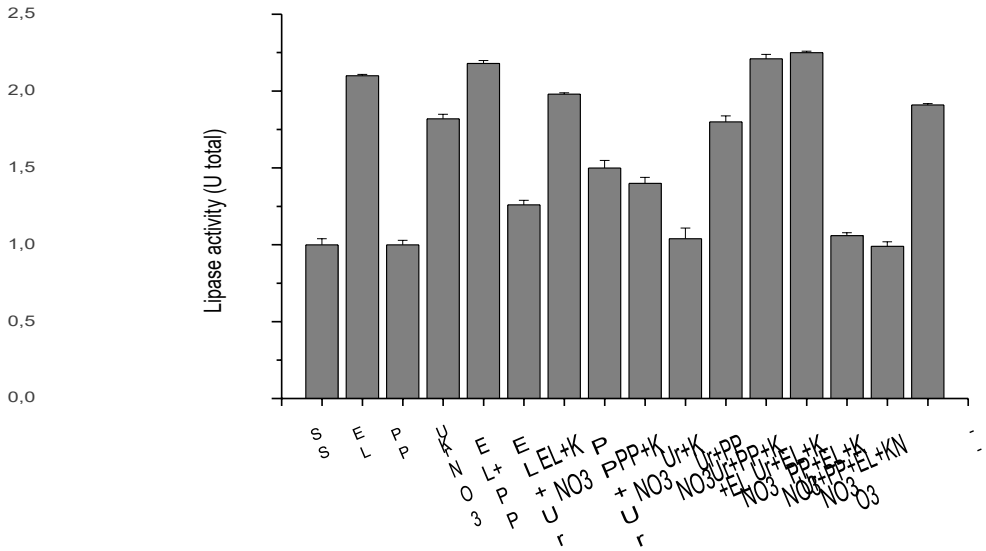
However, because lipolytic activity (1.00 U total) was even observed for the medium that didnot contain a nitrogen source, one could conclude that the fungus does

not necessarily depend on a nitrogen source for the synthesis of lipases. However, the insertion of a nitrogen source in the mediumincreased the activity considerably (Figure 2).

The greatest production of lipases by the A4 fungus was observed in a medium containing peptone, urea and KNO_3, with a total activity of 2.25 U total, 7.14 % higher than that of the mediumcontaining only yeast extract, 3.21 % higher than that obtained with KNO_3 as the nitrogen source and 1.8 % greater than that obtained with the combination of urea, peptone and yeast extract (Figure 2).

According to studies by Bancerz; Ginalska; Fiedurek (2005), higher levels of lipase activity were obtained with the *P. chrysogenum* fungus when the microorganism was grown in a medium containing urea as a source of nitrogen, which is about 15 times greater than that obtained when the fungus was grown with yeast extract or peptone. In turn, Lima et. al. (2003) demonstrated that the best source of nitrogen for the production of lipases by *P. aurantiogriseum* was 1% ammonium sulfate, results different from those seen in our study.

Figure 2. Effect of the nitrogen source on the cultivation of the A4 filamentous fungus in Khanna submerged mediummodified for the production of lipases.



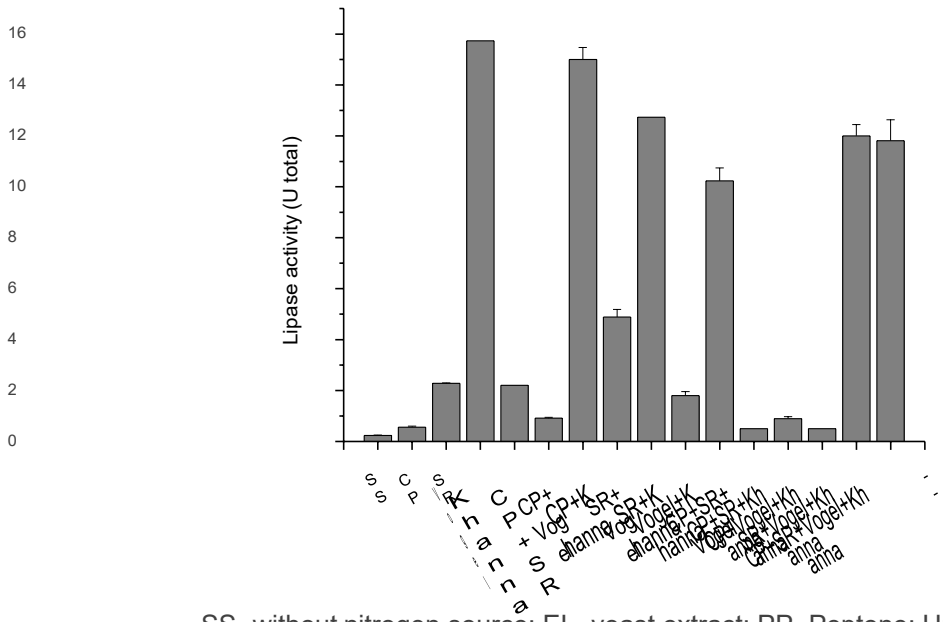
SS- no nitrogen source; EL- yeast extract; PP- Peptone; Ur-Urea.

3.4. ANALYSIS OF SALT SOLUTIONS IN THE CULTIVATION OF I A4 FILAMENTOUSFUNGUS FOR LIPASE PRODUCTION

All the sources analyzed exhibited some extracellular enzymatic activity. The production of enzymes in the absence of salts was 0.23 U total; this value was much lower than that of the controlmedium containing Khanna salts, whose total activity was 2.20 U. This fact suggests that the A4 fungus requires a culture enriched with saline sources to obtain good enzymatic activity (Figure 3).

The greatest production of lipases was observed in medium containing Vogel salt solution (15.73 U total), followed by CP salt solution with Vogel salts (15.00 U total), SR salt solution with Vogel salts (12.73 U total) and SR salt solution with Vogel salts and Khanna salts (12.00 U total). However, the enrichment of the medium with more complex saline sources such as Vogel with CP salts, SR salts and Khanna salts provided a lipolytic activity of 11.81 U total (Figure 3).

Figure 3. Analysis of the influence of different salt sources in the Khanna submerged medium.



SS- without nitrogen source; EL- yeast extract; PP- Peptone; Ur-Urea.

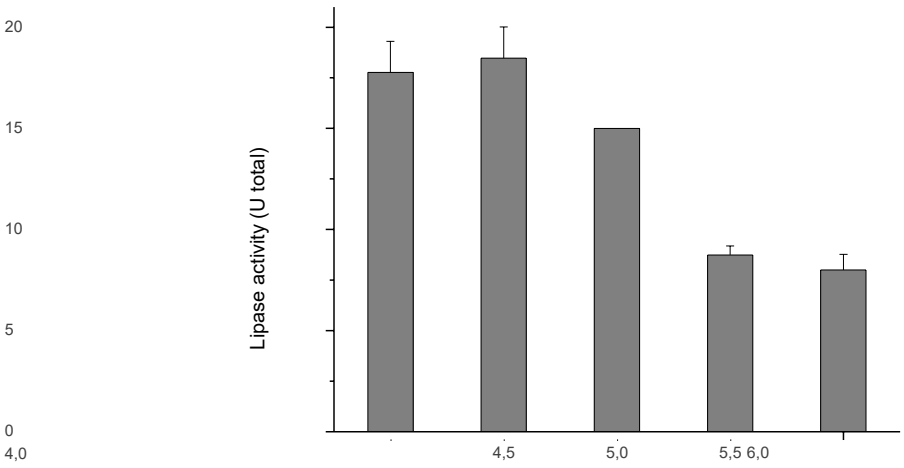
In a similar study, Tan et al. (2003) studied the production of lipase by *Candida sp* in fermentation media using nitrogen, carbon and ion sources. After optimization, the production of I8,060 $U.mL^{-1}$ of lipase in a fermenter (1500 L) was obtained using medium composed of 4 % soy bran, 2.5 % soy oil, 0.1 % K_2HPO_4, 0.1 % $(NH_4)_2SO_4$, and 0.05 % $MgSO_4$, at pH 7.0. The authors observed that the inclusion of Mg^{2+}, Na^{+} and K^{+} were beneficial for the biosynthesis of lipase, whereas the formation of

complexes with fatty acids occurred with the Ca^{2+} ion, changing their solubility and the behavior at the oil/water interface and inhibiting lipase synthesis. Ramani et al. (2010) realized that, with the addition of some metal ions (K^{+}, Na^{+}, Fe^{2+} and Mg^{2+}) to the culture medium, a slight inhibition of the production of lipase by *Pseudomonas gerssadii* was observed. A stimulating effect on the production of lipase was observed with the Ca^{2+} ion. The choice of culture conditions, in particular the chemical composition of the medium and the sources of carbon and nitrogen, are important factors for the production of lipase (DALMAU *et al*., 2000; OLIVEIRA *et al*., 2013).

3.5 DETERMINATION OF THE INITIAL PH FOR THE CULTIVATION OF THE A4FILAMENTOUS FUNGUS FOR LIPASE PRODUCTION

The greatest production of lipase was obtained with the A4 fungus in the pH range 4 to 5, thegreatest production of lipases occurred at pH 4.5 and the lowest at pH 6.0. It was found that the initialpH influenced the production of lipases, and the greatest production occurred in a more acidic range.The total lipolytic activity observed with the A4 fungus was 18.48 U in Khanna medium containingVogel salts with an initial pH of 4.5. This value was approximately 23 % higher than that obtained for the control medium (pH 5.0) and 4 % higher than that obtained in the medium at pH 4.0 (Figure 4).

Figure 4. Effect of the initial pH on the cultivation of the A4 filamentous fungus in a submerged Khanna medium.



The pH is a physical requirement that affects the growth of the fungus because it can influence the availability of certain metal ions. These ions can form complexes that become insoluble at certainpH ranges (FERREIRA *et al*., 2016).

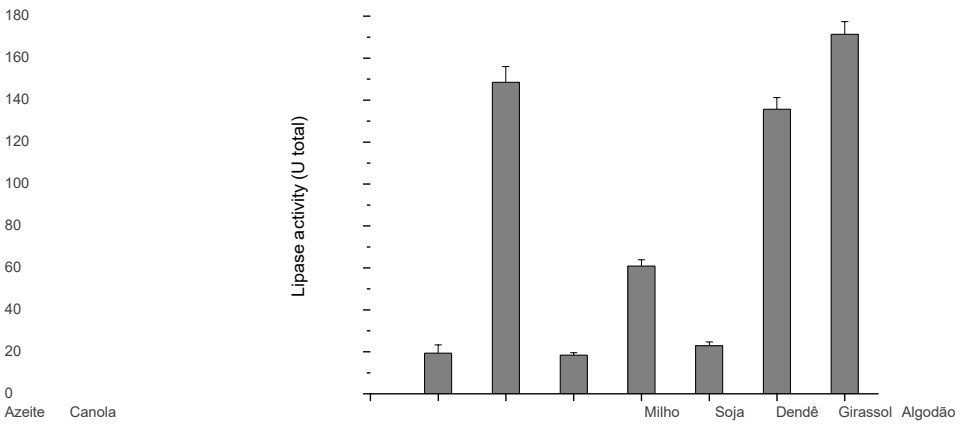
When the fungus is growing, its metabolism alters the pH, either by the absorption of anions or cations or by the production of organic acids or ammonia. During cultivation, buffering is difficult, as the buffers them selves can be assimilated, or they can be toxic in quantities that would be necessaryfor effective buffering (COLEN, 2006).

In a similar study, Ferreira *et al.* (2016) determined the influence of pH on the growth of the *Pycnoporus sanguineus* and *Trametes sp* fungi and observed a greater growth of both fungi in the 5 to 7 pH range. The maximum growth occurred in the range of 5 to 6. Castro and Silva (1996) also observed a similar effect of pH for the fungi *Antrodia albida* and T*yromyces sp*, which preferred a low pH range of 5 to 8. The optimum pH was 6.

3.6 OPTIMIZATION OF THE CARBON SOURCE OF THE CULTURE MEDIUM FOR LIPASEPRODUCTION

Among the seven types of lipid sources used at a concentration of 1 %, the greatest productionof lipases by the A4 fungus was obtained using cotton oil (171.36 U total), followed by canola oil (148.38 U total) and sunflower oil (135.62 U total) (Figure 5). Thus, the enzymatic activity of the culture medium supplemented with cotton oil was approximately 45 % greater than the activity in themedium containing olive oil as a carbon source. Smaller lipase production was obtained using corn oil, olive oil and palm oil, and the following enzymatic activities were observed: 18.39 U total, 19.33U total and 22.88 U total, respectively (Figure 5).

Figure 5. Analysis of the action of different carbon sources in inducing the production of lipases by the A4 filamentousfungus.



These results can be related to the chemical composition of the oils and the fact that lipases preferentially hydrolyze the fatty acid residues in positions 1 and 3 of glycerides. Also, some extracellular lipases requires oleic acid as a stabilizer or activator (MAFAKHER *et al*., 2010). Oils of different origins have different fatty acid compositions, as well as different concentrations of the same lipids (VICI, 2008).

Several authors report the production of lipases by fungi and bacteria in submerged culture supplemented with olive oil, and some studies mention palm oil, Tween 20 and 40, triolein, tripalmitin, soybean oil, cotton oil, sunflower oil and corn oil as carbon sources for the production of microbial lipases.

The fungus *A. niger* exhibited a higher specific activity when grown in a medium supplemented withsesame oil, sunflower oil and palm oil, whereas greater growth of the fungus *Penicillium purpurogenum* was obtained in macauba oil, soybean oil and sunflower oil (VICI, 2008), These results are different from those observed in our study. Growth in various vegetable oils, including babassu, canola, cotton, sunflower and olive oil, was observed for several isolates of *Botryosphaeriaspp*. (MESSIAS et al., 2009). In a similar study, Lima et al. (2003) studied the use of olive, soybean,corn and sunflower oils, and obtained a greater production of lipases by *P. aurantiogriseum* with olive oil.

Bancerz, Ginalska and Fiedurek (2005) performed an experiment similar to that of this workfor the fungus *P. chrysogenum* and obtained a better result using corn oil, olive oil or triolein as the source for lipase production. D'Annibale et al. (2006) studied the effect of adding olive oil, corn oil and soy oil to the culture medum for *C. Cylindracea,* and they observed greater production of lipasesin medium supplemented with olive oil.

Colin, Baigori and Pera (2010) also obtained greater production of lipases by *A. niger* MYA135 using olive oil than with grape, soy, corn and sunflower oils. Messias *et al.* (2009) obtained better production of lipases by *Botryosphaeria ribis* in medium supplemented with oleic acid.

4. CONCLUSIONS

This work demonstrated the importance of standardizing the physical and chemical conditions of the culture medium for the growth and production of lipases from the isolated filamentous fungus A4, and submerged fermentation in the Khanna culture medium with the combination of urea, peptone and KNO_3 as a source of nitrogen, with the solution of Vogel salts, and cotton oil as a sourceof carbon at an initial

pH of 4.5 were defined as the ideal conditions. The optimization of the conditions proved to be necessary because it resulted in an increase in the yield of lipases produced by the fungus A4. Therefore, the present study was very representative because it enabled the selection of strains with a potential for the production of lipases.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valleys (UFVJM). This work was registered in the National System for the Management of Genetic Heritage and Associated Traditional Knowledge (SisGen), number A64AD93.

REFERENCES

ADAMS, P.R. Mycelial amylase activities of thermophilic species of *Rhizomucor*, *Humicola* and *Papulaspora*. **Mycopathologia**, v. 112, p 35-37, 1990.

ALMEIDA, J. M., ALNOCH, R. C., SOUZA, E. M., MITCHELL, D. A., & KRIEGER, N. Metagenomics: Is it a powerful tool to obtain lipases for application in biocatalysis?. **Biochimicaet Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, v. 1868, n. 2, p. 140320, 2020.

BANCERZ, R.; GINALSKA, G.; FIEDUREK, J.; GROMADA, A. Cultivation conditions and properties of extracellular crude lipase from the psychrotrophic fungus *Penicillium chrysogenum* 9'. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.**, v. 32, p. 253- 260, 2005.

BARON, A.M. **Preparação e caracterização de lipases imobilizadas para utilização em biocatálise**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Paraná, 2008.

BHARATHI, Devaraj; RAJALAKSHMI, G. Microbial lipases: An overview of screening, production and purification. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, p. 101368, 2019.

CARVALHO E SILVA, C. H. Coleta, isolamento e análise termofílica de fungos filamentosos isolados no lixão da UFVJM – Campus JK. **Trabalho de conclusão de curso**, 2018.

CARVALHO, S. **Pectinases produzida pelo agente biológico G088:** extração e purificação. 2007.100p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras,MG.

CASTRO E SILVA, A. Micromorfologia da Degradação de Madeira da espécie Amazônica Hura creptans L. por fungos ligninolíticos pertencentes a classe Hymenomycetes (Tese de Doutorado). Manaus: INPA/FUA. 1996.

COLEN, G.; JUNQUEIRA, R.G.; MORAES-SANTOS, T. Isolation and screening of alkaline lipaseproducing fungi from Brazilian savanna soil. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v.22, n. 8, p. 881-885, 2006.

COLIN, V.L.; BAIGORI, M.D.; PERA, L.M. Effect of environmental conditions on extracellular lipases production and fungal morphology from *Aspergillus niger* MYA 135. **J. Basic Microbiol.**, v.50, p. 52-58, 2010.

DALMAU, E. et al. Effect of different carbon sources on lipase production by Candida rugose. Enzyme and Microbial Technology, v. 26,p. 657–663, 2000.

D'ANNIBALE, A.; SERMANNI, G.G., FEDERICI, F.; PETRUCCIOLI, M. Olive-mill wastewaters: a promising substrate for microbial lipase production. **Bioresour. Technol.**, v. 97, p. 1828-1833, 2006.

EMERSON, R. **An experimental study of the life cycles and taxonomy of Allomyces.** Lloydia, 4:77-144, 1941.

FACCHINI, F. D. A., VICI, A. C., PEREIRA, M. G., DE OLIVEIRA, M. F., BATISTA, A. C. F., VIEIRA, A. T., & POLIZELI, M. L. T. M. A useful methodology to select lipase-catalyzed transesterification aiming biodiesel application. **Revista Brasileira de Engenharia de Biossistemas**,v. 10, n. 1, p. 01-13, 2016.

FERREIRA, F. S., BATISTA, I. H., FERREIRA, A. S., ALBUQUERQUE, C. C., CASTRO E SILVA, A. Otimização das condições de crescimento de fungos degradadores de madeira. **Revista Científica de Estudos Superiores de Parintins**, 2016.

GUPTA, R.; RATHI, P.; GUPTA, N; BRADOO, S. Lipase assays for conventional and molecularscreening: an overview. **Biotechnol. Appl. Biochem**., v. 37, p. 63-71, 2003.

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzymes productionby fungi. Mycologia, New York, v. 67, n. 3, p. 597-607, Nov/Dec. 1975.

HIOL, A.; JONZO, M.D.; RUGANI, N.; DRUET, D.; SARDA, L.; COMEAU, L.C. Purification and characterization of an extracellular lipase from a thermophilic *Rhizopus oryzae* strain isolated frompalm fruit. **Enzyme Microbial. Technol.**, v. 26, p. 421-430, 2000.

KHANNA, P.; SUNDARI, S.S; KUMAR, N.J. Production, isolation and partial purification ofxylanase from *Aspergillus* sp. **World J. Microbiol. Biotechnol**., v.11, p 242-243, 1995.

KORMAN, T.P.; SAHACHARTSIRI, B.; CHARBONNEAU, D.M.; HUANG, G.L.; BEAUREGARD, M.; BOWIE, J.U. Dieselzymes: development of a stable and metanol tolerant lipasefor biodiesel production by directed evolution. **Biotechnology for biofuels**, v. 6, n. 1, 2013.

LI, J., ZHANG, J., SHEN, S., ZHANG, B., & WILLIAM, W. Y. Magnetic responsive Thermomyceslanuginosus lipase for biodiesel synthesis. **Materials Today Communications**, p. 101197, 2020.

LIMA, V.M.G.; KRIEGER, N.; SARQUIS, M.I.M.; MITCHELL, D.A.; RAMOS, L.P.; FONTANA, J.D. Effect of Nitrogen and Carbon Sources on Lipase Production by *Penicillium aurantiogriseum*. **Food Technol. Biotechnol.**, v. 41, n. 2, p. 105-110, 2003.

LIMA, B.F.; CORREIA, M. A. B.; SANTOS CORDEIRO,; ANDRADE SILVA, N.R.; SÁ MUNIZ, M. C.; AMORIM, H. S.; LIMA, J. M. M.; ALVES DA SILVA,C.A. Seleção de meios de produção de lipase por Aspergilluss sp. Resumos expandidos do I conicbio / II conabio / VI simcbio (v.2), Recife/PE, 2013.

LOPES, P. H. S. Produção de β-D-frutofuranosidases pelo fungo filamentoso *Aspergillus sp.* P4 isolado no norte de Minas Gerais. **Trabalho de conclusão de curso**, 2017.

MAFAKHER, L.; MIRBAGHERI, M.; DARVISHI, F.; NAHVI, I.; ZARKESH-ESFAHANI, H.; EMTIAZI, G. Isolation of lipase and citric acid producing yeasts from agro-industrial wastewater. New Biotechnology. Vol 27, 2010.

MESSIAS, J.M.; COSTA, B.Z.; LIMA, V.M.G.; DEKKER, R.F.H.; REZENDE, M.I.; KRIEGER, N.; BARBOSA, A.M. Screening *Botryosphaeria* species for lipases: Production of lipase by *Botryosphaeria ribis* EC-01 grown on soybean oil and other carbono sources. **Enzyme Microb. Technol.**, v. 45, p. 426-431, 2009.

MICHELIN, M. Potencial dos fungos *Aspergillus terricola* e *Aspergillus ochraceus* no desenvolvimento de bioprocessos e propriedades das enzimas xilanolíticas. Ribeirão Preto, 2009. Tese (Doutorado em Ciências, Área: Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP.

NOGUEIRA, E. A. Análise de características de fungos filamentosos prospectados no lixão da UFVJM campus JK, Diamantina, MG. **Trabalho de conclusão de curso**, 2018.
OLIVEIRA, A. C. D.; VARGAS, J. V. C.; RODRIGUES, M. L. F.; MARIANO, A. B. Utilização

de resíduos da agroindústria para a produção de enzimas lipolíticas por fermentação submersa. RevistaBrasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.15, n.1, p.19-26, 2013.

OLIVEIRA, M. M. C. Isolamento de fungos filamentosos obtidos de amostras do rio doce e do mar coletada em Regência, município de Linhares, estado do Espírito Santo, e padronização do cultivo do micro-organismo MB2.7 para a produção de lipases. **Trabalho de conclusão de curso**, 2019.

PEREIRA, M. G., VICI, A. C., FACCHINI, F. D. A., TRISTÃO, A. P., CURSINO-SANTOS, J. R., SANCHES, P. R., & POLIZELI, M. D. L. T. D. M. Screening of filamentous fungi for lipase production: Hypocrea pseudokoningii a new producer with a high biotechnological potential. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 32, n. 1, p. 74-83, 2014.

PHUKON, L. C., CHOURASIA, R., KUMARI, M., GODAN, T. K., SAHOO, D., PARAMESWARAN, B., & RAI, A. K. Production and characterisation of lipase for application in detergent industry from a novel Pseudomonas helmanticensis HS6. **Bioresource Technology**, p. 123352, 2020.

RAJENDRAN, A.; PALANISAMY, A.; THANGAVELU, V. Evaluation of medium components by plackett-burman statistical design for lipase production by cândida rugosa and kinetic modeling. Chinese journal of biotechnology. vol 24, Issue 3, 2008.

RAMANI, K.; JOHN KENNEDY, L.; RAMAKRISHNAN, M.; SEKARAN, G. Purification, characterization and application of acidic lipase from Pseudomonas gessardii using beef tallow as a substrate for fats and oil hydrolysis. Process Biochemistry 45, 1683–1691, 2010.

RIZZATTI, A.C.S.; JORGE, J. A.; TERENZI, H.F.; RECHIA, C.G.V.; POLIZELI, M.L.T.M. Purification and properties of a thermostable extracellular-D-xylosidase produced by thermotolerant *Aspergillus phoenicis*. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol**., v.26, p. 96-100 156-160, 2001.

ROSA, T. M. F.; MARINHO, B. M.; BENASSI, V. M. Produção de celulases e formação de açúcares fermentescíveis pela degradação do bagaço de cana-de-açúcar. **Ciência & Tecnologia: FATEC-JB**,Jaboticabal (sp), v. 9, n. 1, p. 38-43, 2017.

SANTOS, A. M. A., Produção de celulases a partir de fungos filamentosos cultivados em meio contendo resíduos de bananeira. **Trabalho de conclusão de curso**, 2017.
SILVA, M. T. Produção de β-D-frutofuranosidases por Aspergillus sp. MT2.4. **Trabalho de conclusão de curso**, 2017.

SILVA, L. T. A. Produção e caracterização bioquímica de amilases produzidas por *Penicillium* sp. L1 isolado em Janaúba – MG. Trabalho de conclusão de curso, 2018.

SILVA, M. D.; ERNANDES, F. M. P. G; CRUZ, C. H. G. Selection and isolation of fungi strains and the use of banana peel a suport for lipases production. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n. 7, p. 51310-51320, 2020.

SOUZA, M. T. S. Prospecção de fungos filamentosos e produção de amilases por Aspergillus sp. M1.7.2. **Trabalho de conclusão de curso**, 2017.

TAN, T.; ZHANG, M.; WANG, B.; YING, C.; DENG, L. Screening of high lipase producing Candida sp. and production of lipase by fermentation. Process Biochemistry 39,459/465, 2003.

VICI, A. C. – Estudos de lipases produzidas pelos fungos Ascomycota *Aspergillus niger, Cordycepsbrongniartii* e *Penicillium purpurogenum.* Monografia apresentada a Faculdade de Filosofia Ciênciase Letras de Ribeirão Preto, para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, USP, 2008.

VOGEL, H.F. Distribution of lysine pathways among fungi: evolutionary implications. **Am. Nat**., v.98, p. 435-446, 1964.

ZHONG, L., FENG, Y., WANG, G., WANG, Z., BILAL, M., LV, H., & CUI, J. Production and use of immobilized lipases in/on nanomaterials: A review from the waste to biodiesel production. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2020.

CAPÍTULO 11

POTENCIAL ZOONÓTICO DA GIARDIOSE: UMA REVISÃO

Andrios da Silva Moreira
Farmacêutico, Doutorando em Microbiologia e Parasitologia pela Universidade Federal de Pelotas.
Instituição: Universidade Federal de Pelotas
Endereço: Av. Eliseu Maciel, S/N - Jardim América, Capão do Leão, RS - Brasil.
Laboratório de Parasitologia, Instituto de Biologia, prédio 25.
E-mail: andriossilvamoreira@gmail.com

Natália Soares Martins
Médica Veterinária, Doutoranda em Microbiologia e Parasitologia pela Universidade Federal de Pelotas.
Instituição: Universidade Federal de Pelotas
Endereço: Av. Eliseu Maciel, S/N - Jardim América, Capão do Leão, RS - Brasil.
Laboratório de Parasitologia, Instituto de Biologia, prédio 25.
E-mail: nataliasmartins@outlook.com

Sara Patron da Motta
Médica Veterinária, Doutoranda em Microbiologia e Parasitologia pela Universidade Federal de Pelotas.
Instituição: Universidade Federal de Pelotas
Endereço: Av. Eliseu Maciel, S/N - Jardim América, Capão do Leão, RS - Brasil.
Laboratório de Parasitologia, Instituto de Biologia, prédio 25.
E-mail: sarapatron@hotmail.com

Carolina Caetano dos Santos
Bióloga, Doutoranda em Microbiologia e Parasitologia pela Universidade Federal de Pelotas.
Instituição: Universidade Federal de Pelotas
Endereço: Av. Eliseu Maciel, S/N - Jardim América, Capão do Leão, RS - Brasil.
Laboratório de Parasitologia, Instituto de Biologia, prédio 25.
E-mail: carol_csantos@hotmail.com

Marcia Raquel Pegoraro de Macedo
Bióloga, Doutora em Ciências biológicas – Parasitologia pela Universidade Federal de Pelotas
Instituição: Universidade Federal de Pelotas
Endereço: Av. Eliseu Maciel, S/N - Jardim América, Capão do Leão, RS - Brasil.
Laboratório de Parasitologia, Instituto de Biologia, prédio 25.
E-mail: mrpmbio@gmail.com

Jerônimo Lopes Ruas
Médico Veterinário, Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Instituição: Universidade Federal de Pelotas
Endereço: Av. Eliseu Maciel, S/N - Jardim América, Capão do Leão, RS - Brasil.

Laboratório de Parasitologia, Instituto de Biologia, prédio 25.
E-mail: jeronimo.ruas@gmail.com

RESUMO: *Giardia duodenalis* é um protozoário cosmopolita de distribuição mundial, identificado como patógeno humano causador da doença entérica denominada giardiose, que afeta mais de 280 milhões de pessoas por ano no mundo e, em alguns países, a prevalência dessa patologia pode chegar a 30 %. A sintomatologia pode variar de hospedeiro para hospedeiro, e abrange desde assintomáticos ou com sintomas leves e autolimitantes até doença grave e crônica, inclusive sem resposta ao tratamento. Sua epidemiologia é complexa, apresentando formas de transmissão direta e indireta, sendo a veiculação hídrica e a transmissão oro-fecal importantes vias. A visualização de *G. duodenalis* em alíquota de fezes frescas através da microscopia é considerada padrão-ouro para o diagnóstico. Esforços nos meios de controle e prevenção dessa zoonose devem ser extensivos e contínuos, tendo em vista seu alto impacto na saúde pública em países em desenvolvimento. O acesso ao saneamento básico e a programas educacionais visando correta higienização pessoal, alimentar e ambiental, o controle de animais errantes e a vacinação de animais de companhia, bem como os cuidados sanitários com animaisde produção são pontos chave no controle da giardiose.

PALAVRAS-CHAVE: *Giardia*, diarreia, epidemiologia, zoonose, giardiose

ABSTRACT: *Giardia duodenalis* is a cosmopolitan protozoan with worldwide distribution, identified as a human pathogen that causes enteric disease and affects more than 280 million people worldwide every year. In some countries, the prevalence of this pathology can reach 30 %. The symptomatology can vary fromhost to host, and includes from asymptomatic or mild and self-limiting symptoms to severe and chronic disease, involving no response to treatment. Its epidemiology is complex, there are forms of direct andindirect transmission, with water and oro-fecal transmission being important routes. Visualization of *G. duodenalis* in an aliquot of stools through microscopy is considered the gold standard for diagnosis. Efforts in the means of controlling and preventing this zoonosis must be extensive and continuous, because of its high impact on public health in developing countries. Access to basic sanitation and educational programs, correct personal, food and environmental hygiene, control of stray animals andvaccination of companion animals, as well as sanitation strategies for farm animals, are key points in the control of giardiasis.

KEYWORDS: *Giardia*, diarrhea, epidemiology, zoonosis, giardiasis.

1. INTRODUÇÃO

Giardia duodenalis é um protozoário, parasito flagelado, de distribuição mundial, identificadocomo patógeno humano causador de diarreia em meados dos anos 80. Estima-se que *Giardia duodenalis* cause em torno de 28,2 milhões de casos ao ano em todo o mundo. O principal sintoma clínico da doença é a diarreia, que pode variar de autolimitada até aguda e persistente, apresentando conjuntamente má absorção. Esse mecanismo ainda não é totalmente compreendido, pois há casos de infecção assintomática e até mesmo de possível proteção contra diarreias oriundas de outros patógenos.

Outros sintomas são: fadiga, anorexia, eructação, vômitos, flatulência, dor e distensão abdominal e esteatorreia (MUHSEN & LEVINE, 2012; MMBAGA & HOUPT, 2017; VENTURA *et. al*., 2018; RYAN *et. al*., 2019).

Esse parasito infecta predominantemente o intestino delgado, colonizando a superfície epitelial (luz), porém não apresenta poder invasivo em camadas mais profundas da mucosa. A infecção por *G. duodenalis* pode acarretar, inclusive, em déficit no crescimento infantil. Alguns estudos identificaramque a giardiose é um fator de risco para déficit de crescimento em crianças até 2 anos, embora não interfira em ganho de peso (MIYAMOTO & ECKMANN, 2015; DONOWITZ *et. al.*, 2016).

Sua epidemiologia é complexa, apresentando formas de transmissão direta e indireta, sendo a veiculação hídrica uma importante via, pois as formas infectantes desse parasito podem resistir aos processos de tratamento de água. O Brasil é responsável por 1 % dos surtos de giardiose no mundo, entretanto, por não se tratar de uma doença de notificação compulsória, acredita-se que esses dados estejam subestimados (BALDURSSON & KARANIS, 2011; CERTAD *et al*., 2017).

Por ser bastante presente em países subdesenvolvidos, em 2004, a Organização Mundial de Saúde (OMS) incluiu *Giardia duodenalis*, juntamente com *Cryptosporidium* spp., na Iniciativa de Doenças Negligenciadas (*Neglected Diseases Initiative*), para obter uma abordagem mais abrangente sobre esses parasitos e as doenças por eles provocadas (SAVIOLI, SMITH & THOMPSON, 2006).

2. TAXONOMIA

Durante muitos anos, *Giardia* sp. teve sua classificação baseada apenas na morfologia do parasito e, até a década de 80, sua sistemática estava especificada da seguinte maneira: Filo Sarcomastigophora, Subfilo Mastigophora, Classe

Zoomastigophorea, Ordem Diplomonadida e Família Hexamitidae. Devido à ausência de organelas características de células eucarióticas, como complexo de Golgi e mitocôndrias, bem como a presença de vias metabólicas similares a células procarióticas, ocorreu a classificação errônea de *Giardia sp.* como um organismo eucariótico primitivo,além de erros de interpretação em sua história evolutiva. Porém, o avanço de testes moleculares, dados genéticos, estruturais e bioquímicos contribuíram para gerar uma nova sistemática: Filo Metamonada,Subfilo Trichozoa, Superclasse Eopharyngia, Classe Trepomonadea, Subclasse Diplozoa, Ordem Giardiida e Família Giardiidae (PLUTZER, ONGERTH & KARANIS, 2010; CERNIKOVA, FASO & HEHL, 2018).

Até 1952 acreditava-se que havia diferentes espécies de *Giardia* infectando hospedeiros mamíferos, porém, a falta de diferenças nas características morfológicas para distinção confiável entre essas espécies não sustentou essa hipótese. Filice organizou todas as espécies sem diferenças morfológicas em apenas uma: *Giardia duodenalis*, que está em vigor desde então. Essa espécie foi então subdividida em 8 genótipos: A e B- infectam humanos e outros mamíferos -, C e D- infectam canídeos -, E - infectam animais de criação -, F – infecta gatos, G – infecta roedores, e H - infecta pinípedes. Os genótipos A e B, isolados de humanos, foram divididos em 4 subconjuntos: AI, AII, BIIIe BIV (THOMPSON, 2009; CACCIÒ, LALLE & SVÄRD, 2018).

Além do complexo *Giardia duodenalis* apresentado acima, outras seis espécies são atualmente reconhecidas: *G. agilis* (anfíbios), *G. psittaci*, *G. ardeae* (ambas de pássaros), *G. muris*, *G. microti* (ambas de roedores) e *G. peramelis* (marsupiais) (CACCIÒ, LALLE & SVÄRD, 2018).

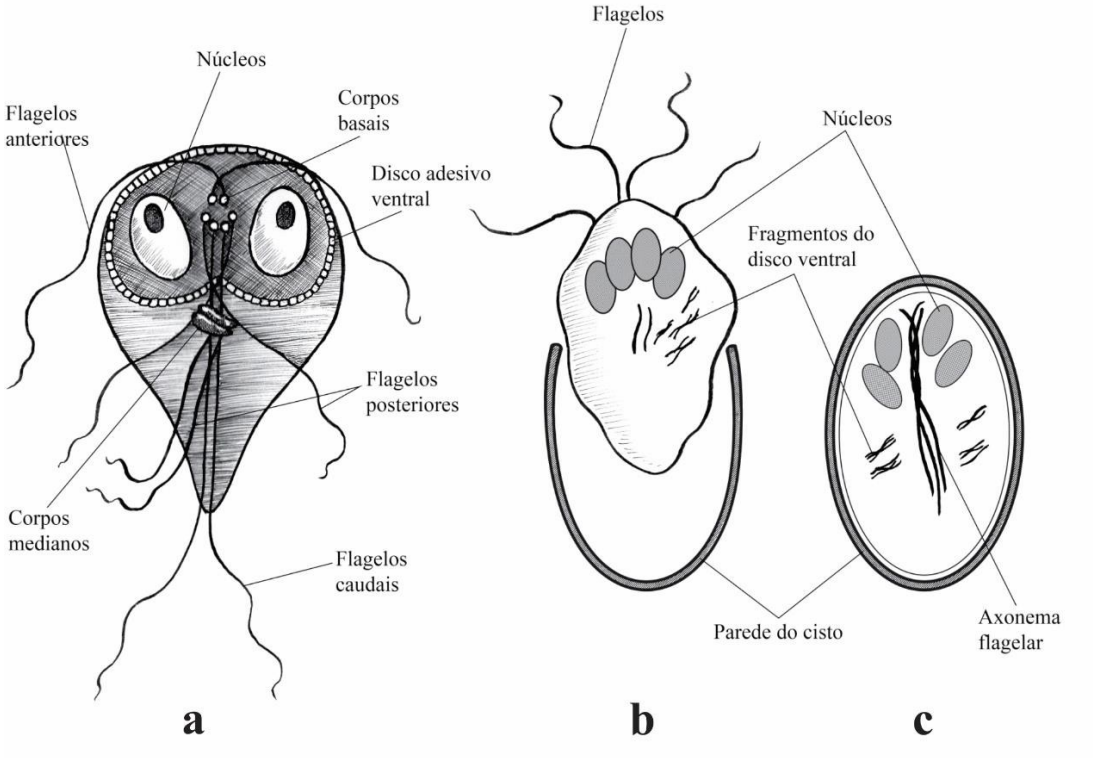
3. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Giardia sp. é um protozoário unicelular de estrutura simples. Possui dois núcleos com envelopes nucleares ligados ao retículo endoplasmático, vacúolos periféricos sob a membrana plasmática e um citoesqueleto complexo - todas essas estruturas características de células eucarióticas básicas. No entanto, não apresenta mitocôndrias, peroxissomos ou Complexo de Golgi.

O ciclo de vida contém 3 estágios que variam conforme a fase. O primeiro estágio é denominado trofozoíto, medindo aproximadamente 15µm, sua morfologia piriforme, contendo dois núcleos anteriores, disco adesivo ventral, corpos basais,

corpos medianos e quatro pares de flagelos (originados dos corpos basais), sendo um par anterior, dois pares posteriores e um par caudal. Apresenta metabolismo ativo e expressão gênica amplamente aumentada para aporte às divisões celulares (ALI & HILL, 2003; SOGAYAR & GUIMARÃES, 2005; ANKARKLEV *et. al.*, 2010; CARRANZA & LUJAN, 2010; AL SAAD & AL EMARAH, 2014). O segundo estágio do ciclo de vida desse parasito é denominado cisto, apresentando forma oval com 8-12 µm de comprimento por 7-10 µm de largura eparede robusta e resistente (composta de 60 % de carboidratos e 40 % de proteínas). Em seu interior, apresenta quatro núcleos, axonema flagelar e fragmentos do disco ventral. Esse estágio contém menos organelas identificáveis que o trofozoíto, é inativo e seu metabolismo é desregulado. É a forma de resistência desse parasito (GUIMARÃES, SOGAYAR & de FRANCO, 1999; ANKARKLEV *et. al.*, 2010; AL SAAD & AL EMARAH, 2014). Um terceiro estágio de curta duração é denominado excizoíto, que difere do trofozoíto pela ausência do disco ventral (ainda não formado) e presença de quatro núcleos tetraploides. Trata-se de um intermediário entre cisto e trofozoíto (Figura 1) (ANKARKLEV *et. al.*, 2010).

Figura 1 - estágios de vida de Giardia. a – trofozoíto, b – excizoíto, c – cisto.

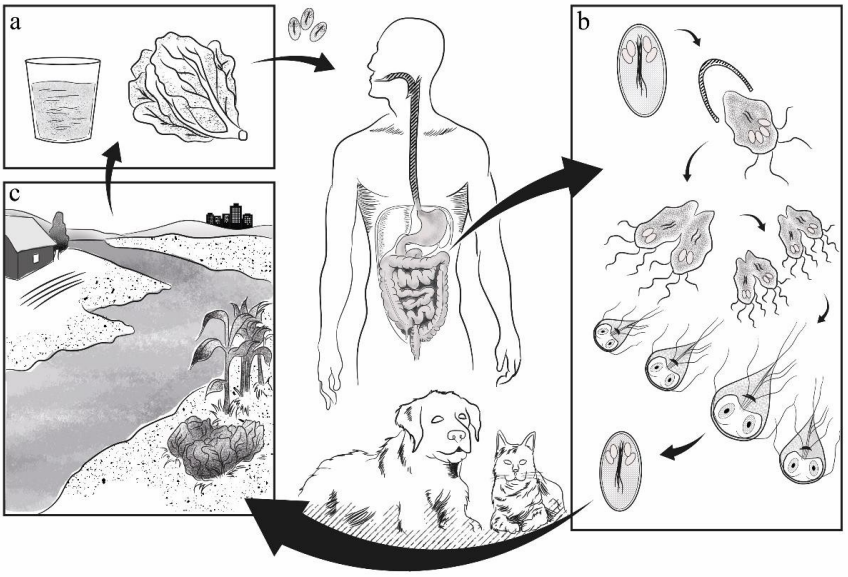


Fonte: Os autores.

4. CICLO BIOLÓGIGO

O ciclo de *Giardia* sp. começa com a infecção do hospedeiro através da ingestão de cistos viáveis na água ou alimentos contaminados. Uma vez no estômago, tem início o desencistamento, estimulado pela presença de ácidos gástricos e enzimas pancreáticas. Como resultado, é liberado um excizoíto (estágio intermediário entre cisto e trofozoíto) com 4 núcleos, que por sua vez sofre divisão binária longitudinal 2 vezes, dando origem a 4 trofozoítos. Nesse processo de divisão, ocorre a formação do disco adesivo, a regulação de proteínas ligadas à motilidade, a formação de organelas e oaumento da expressão gênica e do metabolismo. Esses trofozoítos se replicarão no duodeno e jejuno, realizando a colonização do intestino delgado. Posteriormente, já no ceco e íleo, a falta de colesterol,o pH alcalino e o excesso de sais biliares darão início ao processo de encistamento, onde ocorre a degradação de proteínas, a formação de vesículas específicas, a redução na expressão de genes específicos dos trofozoítos e a expressão de proteínas específicas da parede do cisto. O cisto, por sua vez, é a forma de resistência de *Giardia* sp. e será excretado nas fezes, contaminando o ambiente (Figura 2) (SOGAYAR & GUIMARÃES, 2005; HUANG & WHITE, 2006; ANKARKLEV *et al.*, 2010).

Figura 2 - Ciclo de Giardia sp. a – água ou alimentos contaminados com cistos são ingeridos pelo hospedeiro. b – após a ingestão, no estômago, inicia-se o processo de desencistamento, dando origem a um excizoíto que sofrerá divisão binária 2 vezes, originando 4 trofozoítos. Esses se replicarão no duodeno e jejuno, colonizando o intestino delgado. No ceco e íleo, começa o processo de encistamento, dando origem aos cistos. c – o cisto é eliminado pelo hospedeiro contaminando o ambiente.



Fonte: Os Autores.

O processo de encistamento é mais lento e com menor sincronia do que o desencistamento, pois nem todas as células se diferenciam de forma imediata, tornando um curso de transição gradual. Os cistos consomem em média 15 % do oxigênio dos trofozoítos, e podem permanecer por meses em água doce em aproximadamente 4ºC. Já os trofozoítos podem colonizar o intestino dos hospedeiros por semanas a anos, aproveitando as condições dos mesmos nas etapas desse processo (BIRKELAND *et al.*, 2010).

Além da forma resistente de cisto para sobreviver no meio ambiente, *Giardia* sp. apresenta também um mecanismo de sobrevivência dentro do intestino do hospedeiro através da variação antigênica, que consiste na troca contínua de antígenos específicos de superfície a fim de escapar do sistema imune (CARRANZA & LUJAN, 2010).

5. GIARDIOSE

5.1. TRANSMISSÃO

A transmissão de *Giardia* sp. tem início através da ingestão de cistos viáveis pelo hospedeiro (transmissão fecal-oral), que pode ocorrer de várias maneiras, tais como contato direto com outro hospedeiro ou materiais, água e/ou alimentos contaminados. Algumas práticas sexuais também podem ter relação com a transmissão. Os cistos podem também ser carreados por pássaros ou insetos, favorecendo a contaminação ambiental (HUNTER & THOMPSON, 2005; ROBERTSON, 2013).

A água e os alimentos contaminados são os meios de transmissão mais comuns de *Giardia*. Esses meios são favorecidos pela presença de alguns fatores referentes à biologia desse parasito: excreção de grande número de cistos nas fezes, alta resistência do cisto no ambiente, que pode permanecer viável por semanas a meses, desde que em condições favoráveis, como umidade e temperatura, e a baixa dose infectante (ROBERTSON, 2013).

Existem 4 principais ciclos de transmissão que podem interagir entre si e são responsáveis pela manutenção de *Giardia* sp. em hospedeiros mamíferos: o ciclo humano, o de animais de companhia, o de animais de criação e o de animais selvagens. Esses ciclos podem ser interligados com transmissão de forma direta ou por fontes de água contaminadas (THOMPSON, 2004).

Apesar de diferentes genótipos possuírem especificidade para determinados

hospedeiros, vários estudos têm contribuído para confirmar essa interação entre ciclos de transmissão de *Giardia*: em 1997, pesquisadores encontraram um cão com infecção mista dos genótipos B e C (específicas de humanos e cães, respectivamente), sugerindo provável infecção do cão por fonte humana. Em 2004, isolados de cães e humanos obtidos em uma mesma comunidade de Assan, na Índia, apresentavam fortes semelhanças genéticas entre eles, sugerindo forte infecção zoonótica. Mais recentemente, em 2016, 15 isolados obtidos de amostras de crianças de até 4 anos de idade foram semelhantes ao genótipo E, que é específica de gado, sinalizando possíveis novas rotas de transmissão zoonótica. No entanto, ainda não há uma evidência concreta de que esse tipo de transmissão esteja ocorrendo sistematicamente (HOPKINS *et. al*., 1997; TRAUB *et. al*., 2004; FANTINATTI *et. al*., 2016; THOMPSON & ASH, 2016).

5.2 EPIDEMIOLOGIA

A giardiose é uma doença entérica que afeta mais de 280 milhões de pessoas por ano no mundo e, em países subdesenvolvidos, a prevalência dessa patologia pode chegar a 30 %. A maior exposiçãoà água contaminada pela população pobre nesses países, a falta de saneamento básico e infraestrutura aumentam os riscos de infecção (COELHO *et al.*, 2017).

O sequenciamento completo do genoma de *Giardia duodenalis* proporcionou avanços nas investigações epidemiológicas desse parasito, tais como a capacidade de transmissão zoonótica e as fontes de surtos, sendo a veiculação hídrica sua principal forma de propagação. Estudos demonstraram que o genótipo A-I, isolado de humanos, animais e fontes de água contaminada de diferentes países apresentava alta similaridade, com raras variações no genoma, consistindo em seu caráter cosmopolita. Em contrapartida, o genótipo B foi bastante variável (várias linhagens clonais), estando relacionado a surtos causados pela água em determinadas regiões geográficas (TSUI *et. al*., 2018; THOMPSON & ASH, 2019).

Conforme citado anteriormente, a veiculação hídrica é o meio associado mais comumente à ocorrência de surtos de *Giardia*, sejam águas recreativas ou para consumo. Esse meio de transmissão foi o responsável por um surto recente ocorrido na Noruega, onde mais de 3.000 casos sintomáticos foram registrados. No entanto, a transmissão oro-fecal direta também é comum e bastante observada em creches, assim como o aumento da incidência dessa doença em homens homossexuais pode estar relacionada com as práticas sexuais, apesar da infecção pelo vírus HIV não

apresentar fator de risco para giardiose (ADAM, 2020).

Um estudo epidemiológico caso-controle realizado na Nova Zelândia identificou que ter um familiar infectado dentro da residência é fator de risco para a infecção de outros membros da família, potencializando a forma de transmissão direta (indivíduo para indivíduo), em um panorama de contaminação dos alimentos preparados pelo indivíduo infectado (ZAJACZKOWSKI *et al*., 2018).

Embora bastante importante em humanos, a giardiose também pode ser observada em animais domésticos e selvagens. Entre os animais domésticos, a maior prevalência de infecção por *Giardia* foi encontrada em cães, variando entre 0,8 a 45 % só no Brasil, seguido pelos gatos (3,5 % a 13,7 %). Isso reforça a giardiose como um problema de saúde pública, posto que cães e gatos errantes podem contaminar o ambiente e apresentarem-se assintomáticos à doença, além de manter relações próximas com humanos (COELHO *et al*., 2017; RYAN & ZAHEDI, 2019).

Devido à relativa especificidade de hospedeiro, outra hipótese levantada é de que animais de companhia seriam portadores dos genótipos A e B (específicas para humanos), atuando como veículos de transmissão mecânica, contaminando o ambiente ou até mesmo apresentando cistos aderidos à pelagem (ZAJACZKOWSKI *et. al*., 2018).

Infecções por *Giardia* sp. também apresentam prevalências altas em animais de criação, mais comumente o gado, onde podem alcançar 74,2 %, sendo mais comuns em bezerros e gado leiteiro do que no gado de corte. Apesar do genótipo E ser o mais descrito causando infecção nesses animais, o genótipo A (I e II) e, em menor número, o genótipo B (III e IV) também foram relatados (RYAN & ZAHEDI, 2019).

5.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Em Humanos

A giardiose é uma enfermidade que se desenvolve através de diversos fatores inerentes à complexa interação entre parasito e o hospedeiro. Não tem caráter invasivo e seu desenvolvimento transcorre no epitélio intestinal. Seus sinais clínicos mais comumente apresentados são diarreia, náusea, vômito e perda de peso e podem começar a aparecer entre 7 a 12 dias após a infecção (BARTELT & SARTOR, 2015; EINARSSON, MA'AYEH & SVARD, 2016).

O desenvolvimento dos sintomas pode variar de hospedeiro para hospedeiro, de assintomáticos ou com sintomas leves e autolimitantes até doença grave e

cronicidade, inclusive sem resposta ao tratamento. Esses sintomas variam conforme o estado imunológico, nutricional, microbiota intestinal e infecções mistas do hospedeiro (BARTELT & SARTOR, 2015; EINARSSON, MA'AYEH & SVARD, 2016).

A atrofia leve ou severa das vilosidades do epitélio intestinal, bem como reações inflamatórias crônicas, são frequentemente encontradas em pacientes sintomáticos, variando tanto de indivíduo para indivíduo quanto no epitélio do mesmo indivíduo (ADAM, 2020).

A cronicidade da giardiose pode levar ao desenvolvimento de síndromes do intestino irritável e fadiga crônica, alergias alimentares e artrite. Surtos de giardiose em áreas não endêmicas podem acarretar a continuidade dos sintomas por um período mesmo após a eliminação do parasito (EINARSSON, MA'AYEH & SVARD, 2016).

Um estudo prospectivo de coorte realizado em Bangladesh evidenciou que a infecção por *Giardia duodenalis* nos primeiros 6 meses de vida pode causar diminuição no escore de crescimento em crianças até 2 anos. Anteriormente, esse mesmo fenômeno havia sido observado em testes *in vitro* com camundongos induzidos à má-nutrição (BARTELT *et al*., 2013; DONOWITZ *et al*., 2016).

Em Animais

A infecção por *Giardia* é comum em animais de companhia, sendo a principal espécie a acometer cães e gatos. Pode ocasionar diarreia, leve desconforto abdominal ou dor abdominal intensa, perda de peso e cãibras. Animais jovens ou imunossuprimidos são os que mais apresentam os sinais clínicos característicos, podendo ainda apresentar síndrome da má absorção, acarretando em retardo do crescimento. No entanto, a infecção assintomática também é observada (DESTRO *et al*., 2019; RYAN& ZAHEDI, 2019).

Da mesma forma como em animais de companhia, infecções por *Giardia* são frequentes em bovinos, ovinos e caprinos. Em bovinos, podem causar diarreia e redução no crescimento e desenvolvimento de bezerros, mas frequentemente são infecções assintomáticas. Em ovinos e caprinos, a giardiose é mais severa, podendo causar diarreia grave, depressão, perda de peso e mortalidade, estando associada à diminuição no ganho de peso e à pior conversão alimentar (RYAN & ZAHEDI, 2019).

Similar à infecção nos bovinos, a giardiose em suínos pode causar diarreia, porém frequentemente se apresenta de forma assintomática (RYAN & ZAHEDI, 2019).

5.4 DIAGNÓSTICO

O método diagnóstico mais comum em infecção por *Giardia* se dá pela detecção de cistos presentes em fezes frescas ou trofozoítos móveis presentes em fezes diarreicas ou lavado duodenal. Testes imunológicos e moleculares também podem ser empregados (BALLWEBER *et. al*., 2010; WILLAR, MD., 2015).

A visualização de *Giardia* sp. em alíquota de fezes frescas através da microscopia é considerada padrão-ouro para o diagnóstico e pode ser realizado de forma direta ou por meio de concentração, variando a sensibilidade do teste. A quantidade de fezes analisadas e o treinamento profissional do microscopista auxiliam no emprego correto desses métodos para o diagnóstico fidedigno (HOOSHYAR *et. al*., 2019).

Os métodos diretos envolvem a visualização de trofozoítos móveis em esfregaços de fezes frescas (diarreicas ou pastosas) pré-diluídas em solução salina (NaCl 0,85 %) ou trofozoítos imóveis em acetato de sódio-ácido acético-formaldeído (SAF), que pode ser observado descorado ou corado com solução de iodo (lugol 2-5 %). A morfologia dos trofozoítos não é preservada por muito tempo em solução salina, porém a utilização da solução acetato de sódio-ácido acético-formaldeído (SAF) com adição de lugol, embora imobilize esse estágio, preserva as características morfológicas do parasito (HOOSHYAR *et. al*., 2019; DESTRO *et. al*., 2019).

Em fezes normais, geralmente de indivíduos assintomáticos, os mesmos métodos podem ser empregados, no entanto o estágio mais comum e frequentemente observado é o cisto. A sensibilidade desses métodos varia de acordo com o número de amostras analisadas, pois a intermitência da excreçãode cistos nas fezes ou o baixo número dos mesmos na alíquota dificultam o diagnóstico. É recomendadauma série de 3 amostras em dias alternados ou espaçadas em 10 dias para reduzir as chances de falso negativo (RIVERA *et. al*., 2002; SOARES & TASCA, 2016; HOOSHYAR *et al*., 2019).

Outro método bastante utilizado é o de concentração, onde um procedimento de flotação ou sedimentação é realizado através de diferença de densidade e força centrífuga para separar cistos e ovos de detritos fecais. É um método que facilita a visualização desses microrganismos mesmo que pouco presentes nas amostras, pois o esfregaço é confeccionado apenas da alíquota concentrada, reduzindo o número de material orgânico no campo de visualização. Solução salina, nitrato de sódio, sacarose (Sheater) e sulfato de zinco (Faust) são soluções mais utilizadas na flotação, sendo

esta última mais específica para *Giardia* sp. pois a sacarose é hipertônica e altera a morfologia dos cistos, o que não acontece com sulfato de zinco. Os dois métodos mais comumente empregados são o de centrífugo- flutuação de Faust e o de centrífugo-sedimentação de Ritchie (SHEATER, 1923; FAUST *et al*., 1938; RITCHIE, 1948; TANGTRONGSUP & SCORZA, 2010; HOOSHYAR *et al*., 2019).

Além dos métodos de microscopia, técnicas imunológicas também podem ser empregadas, tais como *ELISA* (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), imunocromatografia e imunofluorescência (IF). Todos eles com rápida e fácil execução e bons resultados de especificidade e sensibilidade, sendo mais indicados para exames epidemiológicos, investigação de surtos ou triagem em áreas endêmicas. Também podem ser empregados quando os testes microscópicos não apresentarem resultados convincentes. Tanto IF quanto *ELISA* utilizam anticorpos monoclonais contra proteínas da parede do cisto. A imunocromatografia utiliza também anticorpos monoclonais contra proteínas específicas do trofozoíto. Kits imunoenzimáticos estão disponíveis industrialmente, sendo alguns deles destinados à detecção simultânea de *Giardia*, *Cryptosporidium* e *Entamoeba* em amostras fecais. As desvantagens desses métodos são seu alto custo relativo e possível falso positivo devido à reação cruzada, ainda que essa taxa esteja próxima de 2 % (GEURDEN, VERCRUYSSE & CLAEREBOUT, 2010; TANGTRONGSUP & SCORZA, 2010; GOÑI *et al*., 2012; HEYWORTH, 2014).

Embora possa ser utilizada para teste diagnóstico, a reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction – PCR*) é mais indicada para estudos taxonômicos e epidemiológicos, quando espécies ou genótipos de *Giardia* precisam ser diferenciados. Trata-se de um método molecular que utiliza um gene para diagnóstico ou vários genes para genotipagem. Entre os mais comumente empregados estão a pequena subunidade do DNA ribossomal (SSU - 18S), glutamato desidrogenase (Gdh - gene responsável pelo metabolismo de carboidratos e síntese de aminoácidos), triose-fosfato isomerase (Tpi – também responsável pelo metabolismo de carboidratos) e β-giardin (proteína estrutural do disco adesivo) (GEURDEN, VERCRUYSSE & CLAEREBOUT, 2010; LUJAN & SVÄRD, 2011; HOOSHYAR *et. al.*, 2019).

Outros alvos gênicos que podem ser utilizados para análise filogenética de *Giardia* são as proteínas M1h1 (reparação do DNA), EF1- α (aparelho translacional), Ferredoxina (metabolismo energético), Histonas (compactação do DNA), Actina e α-

tubulina (proteínas estruturais), Chaperonin60 e GLORF-C4 (choque térmico), região intergênica ribossomal, região ITS e proteína ribossomal 1.7a (ambas envolvidas na síntese de proteínas) (LUJAN & SVÄRD, 2011).

Embora esta técnica seja considerada altamente sensível e específica, a presença de inibidores da PCR nas fezes pode fazer com que não ocorra replicação em cerca de 20 % das amostras positivas em testes microscópicos e/ou imunológicos, acarretando falso negativo (TANGTRONGSUP & SCORZA, 2010).

5.5 TRATAMENTO

Atualmente, existem vários fármacos disponíveis para o tratamento de infecções por *Giardia*. Os mais empregados são os derivados da classe nitroimidazol (metronidazol, tinidazol, ornidazol, secnidazol) e derivados da classe benzimidazol (mebendazol, albendazol e fembendazol). Apesar dessas opções, não há um consenso em relação ao uso desses fármacos, pois todos eles apresentam algum efeito adverso, podem agir na microbiota intestinal, apresentar algum potencial carcinogênico ou até mesmo induzir o desenvolvimento de resistência pelo parasito, principalmente pela classe dos nitroimidazois. Infecções frequentes mesmo com o uso desses medicamentos também foram descritas. Entretanto, o metronidazol ainda é o mais empregado mundialmente (EISSA & AMER, 2012; GARCÍA *et al*., 2020).

Tratamentos alternativos para giardiose também podem ser empregados utilizando nitazoxanida, furazolidona, quinacrina, cloroquina e paromomicina. Nitazoxanida foi descrita como sendo altamente eficaz contra isolados de *G. duodenalis* resistentes ao metronidazol. Paromomicina édescrita como fármaco de escolha no tratamento de giardiose em gestantes pela baixa absorção intestinal e excreção sem metabolização. Furazolidona apresenta eficácia variável e efeitos adversos indesejáveis (LEITSCH, 2015; GARCÍA *et al*., 2020).

Os fármacos fembendazol e associações de febantel com pirantel e praziquantel são descritos como amplamente utilizados para tratamento de giardiose e outras parasitoses em animais, além de nãoalterar significativamente a microbiota intestinal desses hospedeiros (LEE *et al.*, 2020; FUJISHIRO *et al.*, 2020).

5.6 CONTROLE E PREVENÇÃO

Conforme descrito anteriormente, a veiculação hídrica tem sido a principal forma de infecção e causa de surtos pelo mundo. Logo, a importância do tratamento correto de águas de consumo e recreação, a irrigação de hortaliças e lavagem de alimentos crus antes do consumo com água tratada, bem como o acesso a programas

de saneamento e higiene da água contribuem para a redução de casosdessa doença (RYAN *et al*., 2019).

A higiene pessoal e ambiental inadequada e a falta de infraestrutura em saúde também foram descritas como potenciais agentes de giardiose e outras parasitoses, principalmente em países em desenvolvimento. Esse problema é agravado quando se trata de crianças convivendo em ambientes fechados com limpeza incorreta ou insuficiente. Portanto, a implementação de ações preventivas para esses problemas e uma efetiva educação em saúde devem ser intensas e constantes (HARVEY *et al*., 2020).

O contato frequente com animais errantes, principalmente cães e gatos, o descontrole populacional desses animais em áreas urbanas e seu acesso a lixões contribuem para a manutenção de *Giardia*, bem como de outros parasitos, no ambiente, favorecendo a disseminação de zoonoses. Atividades educacionais e controle populacional de animais errantes colaboram para a redução desse problema (DESTRO, FC *et al*., 2019; HARVEY *et al*., 2020).

Segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), agência do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos, as principais diretrizes para controle e prevenção de giardiose para o público em geral são: a) praticar boa higiene, b) evitar fontes de água que possam estar contaminadas, c) evitar ingerir alimentos que possam estar contaminados, d) evitar contato ou contaminação com fezes durante o sexo, e) limpeza do ambiente após presença de animais ou pessoas doentes. Detalhes dessas diretrizes bem como suas fontes podem ser consultadas no link https://www.cdc.gov/parasites/giardia/prevention-control-general-public.html.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A giardiose é uma doença de forte presença no cotidiano da população mundial, principalmente em países subdesenvolvidos. Seu impacto na saúde pública é alto e, em vários países, sua prevalência é elevada. Esforços nos meios de controle e prevenção dessa zoonose devem ser extensivos e contínuos, bem como o acesso ao saneamento básico e a correta higienização pessoal e ambiental. Cuidados sanitários com animais de companhia e de criação também devem ser elaborados a fim de reduzir os elevados índices dessa doença, principalmente em populações em situação de vulnerabilidade. O tratamento eficaz em humanos e animais, bem como

a vacinação nesses últimos, também contribui para a redução da manifestação dessa zoonose. No entanto, o esforço deve ser conjunto na eliminação das fontes de infecção da doença para diminuição de casos de reinfecção.

Avanços nas pesquisas referente taxonomia, biologia e histórico desse parasito estão contribuindo para o conhecimento aprofundado da giardiose, principalmente no campo molecular. No entanto, ainda não houve um consenso sobre as espécies ou genótipos e suas respectivas especificidades aos hospedeiros, e muitos estudos no campo de mapeamento genético de *Giardia* sp ainda devem ser realizados.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

Adam, RD. Giardiasis. ADAM, R.D. **Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases**. 10 ed. Elsevier. 2020. p. 707-711.

Ali, SA; Hill, DR. *Giardia intestinalis*. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 453-460, novembro. 2003.

Al Saad, RK; Al Emarah, G. Y. Morphological descriptive study of *Giardia lamblia* in man and cowat basrah. **International Journal of Biological Research**, v. 2, n. 2, p. 125-128, setembro. 2014.

Ankarklev, J. *et. al.* Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. **Naturereviews microbiology**, v. 8, p. 413-422, abril. 2010.

Baldursson, S; Karanis, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwideoutbreaks - an update 2004-2010. **Water Research**, v. 45, n. 20, p. 6603-6614, dezembro. 2011.

Bartelt, LA. *et. al*. Persistent *G. lamblia* impairs growth in a murine malnutrition model. **The Journalof clinical investigation**, v. 123, n. 6, p. 2672-2684, maio. 2013.
Bartelt, LA; Sartor, RB. Advances in understanding *Giardia*: determinants and mechanisms of chronicsequelae. **F1000 Prime Reports**, v. 7, n. 62, p. 1-14, maio. 2015.

Birkeland, SR. *et. al.* Transcriptome analyses of the *Giardia lamblia* life cycle. **Molecular andBiochemical Parasitology**, v. 174, n. 1, p. 62-65, novembro. 2010.
Cacciò, SM; Lalle, M; Svärd, SG. Host Specificity in the *Giardia duodenalis* Species Complex.

Infection, Genetics and Evolution, v. 66, p. 335-345, dezembro. 2018. Carranza, PG; Lujan, HD. New insights regarding the biology of *Giardia lamblia*. **Microbes and Infection**, v. 12, n. 1, p. 71-80, janeiro. 2010.

Cernikova, L; Faso, C; Hehl, AB. Five facts about *Giardia lamblia*. **PLoS Pathogens**, v. 14, n. 9, p. 1-5, setembro. 2018.

Certad, G. *et. al*. Pathogenic Mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. **Trends in Parasitology**,v. 33, n. 7, p. 561-576, julho. 2017.

Coelho, CH. *et al.* Giardiasis as a neglected disease in Brazil: Systematic review of 20 years ofpublications. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 10, p. 1-22, outubro. 2017.

Destro, FC. *et. al.* Giardiose: importância na rotina clínica veterinária. **Pubvet**, v. 13, n. 12, p. 1-6,dezembro. 2019.

Donowitz, J. R. *et. al.* A Prospective Longitudinal Cohort to Investigate the Effects of Early Life Giardiasis on Growth and All Cause Diarrhea. **Clinical Infectious Diseases**, v. 63, n. 6, p. 792-797, setembro. 2016.

Einarsson, E. Ma'ayeh, S; Svard, SG. An up-date on *Giardia* and giardiasis. **Current Opinion in Microbiology**, v. 34, p. 47-52, agosto. 2016.

Eissa, MM; Amer, EI. Giardia lamblia: A new target for miltefosine. **International Journal of Parasitology**, v. 42, n. 5, p. 443-452, maio. 2012.

Faust ED. *et al.* A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts andhelminth eggs in feces. Preliminary communication. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 18, n. 2, p. 169-183, março. 1938.

Fujishiro, MA. *et. al.* Evaluation of the effects of anthelmintic administration on the fecal microbiomeof healthy dogs with and without subclinical *Giardia* spp. and *Cryptosporidium canis* infections. **PLoSone**, v. 15, n. 2, p. 1-17, fevereiro. 2020.

García, RA. *et. al.* Chapter Six - Drug resistance in *Giardia*: Mechanisms and alternative treatments for Giardiasis. **Advances in Parasitology**, v. 107, p. 201-282. 2020.

Geurden, T; Vercruysse, J; Claerebout, E. Is Giardia a significant pathogen in production animals? **Experimental Parasitology**, v. 124, n. 1, p. 98-106, janeiro. 2010.

Guimarães, S; Sogayar, MIL; de Franco, MF. *Giardia duodenalis*: inter-strain variability of proteins, antigens, proteases, isoenzymes and nucleic acids. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de SãoPaulo**, v. 41, n. 1, p. 45-58, janeiro/fevereiro. 1999.

Harvey, TV. *et. al.* Enteric parasitic infections in children and dogs in resource-poor communities in northeastern Brazil: Identifying priority prevention and control areas. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 6, p. 1-19, junho. 2020.

Hooshyar, H. *et. al. Giardia lamblia* infection: review of current diagnostic strategies. **Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench**, v. 12, n. 1, p. 3-12. 2019.

Huang, DB; White, AC. An Updated Review on *Cryptosporidium* and *Giardia*. **Gastroenterology Clinics of North America**, v. 35, n. 2, p. 291-314, junho. 2006.

Lee, NN. *et al.* Effects of *Giardia lamblia* Colonization and Fenbendazole Treatment on Canine FecalMicrobiota. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 59, n. 4, p. 423-429, maio. 2020.

Leitsch, D. Drug Resistance in the Microaerophilic Parasite *Giardia lamblia*. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 2, p. 128-135. Julho. 2015.

Luján HD; Svärd, S. ***Giardia*: a model organism**. 1 ed. Austria: SpringerWienNewYork. 2011. Miyamoto, Y; Eckmann, L. Drug Development Against the Major Diarrhea-Causing Parasites of theSmall Intestine, *Cryptosporidium* and *Giardia*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1-17, novembro.2015.

Mmbaga, B.T; Houpt, E. R. *Cryptosporidium* and *Giardia* Infections in Children: A Review. **PediatricClinics of North America**, v. 64, n. 4, p. 837-850, agosto. 2017.

Muhsen, K; Levine, M. M. A Systematic Review and Meta-analysis of the Association Between *Giardia lamblia* and Endemic Pediatric Diarrhea in Developing Countries. **Clinical Infectious Diseases**, v. 55, n. 4, p. 271-293, dezembro. 2012.

Plutzer, J; Ongerth, J; Karanis, P. *Giardia* taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. **International Journal of Hygiene and Environmental Health,** v. 213, n. 5, p. 321-333, setembro. 2010.

Ritchie, LS. An Ether Sedimentation Technique for Routine Stool Examinations. **Bulletin of the U.S.Army Medicine Department**. Vol. 8, n. 4, p 326, abril, 1948.

Rivera, M. *et. al.* Giardiasis Intestinal: Mini Revisión. **Investigación Clínica**, v. 43, n. 2, p.

119-128, abril. 2002.

Ryan, U. *et. al. Giardia*: an under-reported foodborne parasite. **International Journal for Parasitology**, v. 49, n. 1, p. 1-11, janeiro. 2019.

Ryan, U; Zahedi, A. Molecular epidemiology of giardiasis from a veterinary perspective. **Advances inParasitology**, v. 106, p. 209-254. 2019.

Savioli, L; Smith, H; Thompson, A. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'Neglected Diseases Initiative'. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 5, p. 203-208, maio. 2006.

Sheather AL. The Detection of Intestinal Protozoa and Mange Parasites by a Floatation Technique. **Journal of Pathology and Therapy**, v. 36, p. 266-275. 1923.

Soares, R; Tasca, T. Giardiasis: An Update Review on Sensitivity and Specificity of Methods for Laboratorial Diagnosis. **Journal of microbiological methods**, v. 129, p. 98-102, outubro. 2016.

Sogayar, MITL; Guimarães, S. *Giardia*. NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 11 ed. São Paulo: Editora Atheneu. 2005. p 121-126.

Tangtrongsup, S. Scorza, V. Update on the Diagnosis and Management of *Giardia* spp Infections in Dogs and Cats. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 25, n. 3, p. 155-162, agosto. 2010.

Thompson, R. C. A. *Echinococcus*, *Giardia* and *Cryptosporidium*: observational studies challenging accepted dogma. **Parasitology**, v. 136, n. 12, p. 1529-1535, outubro. 2009.

Thompson, RCA; Ash, A. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections – What's new? **Infection, Genetics and Evolution**, v. 75, p. 1-5, novembro. 2019.

Tsui, CKM *et. al.* Beaver Fever: Whole-Genome Characterization of Waterborne Outbreak andSporadic Isolates To Study the Zoonotic Transmission of Giardiasis. **mSphere**, v. 3, n. 2, p. 1-17, março/abril. 2018.

Ventura, LLA. *et. al.* Effect of probiotics on giardiasis. Where are we? **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, n. 2, p. 1-7, julho. 2018.

CAPÍTULO 12

MORFOLOGIA DO SISTEMA DIGESTIVO DE PEIXES PRESENTES DURANTE O OUTONO NO MERCADO MUNICIPAL DE PARANAGUÁ – PR

Wesley Silva da Rosa
Formação: Graduado em Ciências Biológicas Licenciatura) pela Universidade Estadual do Paraná/Unespar campus de Paranaguá
Instituição: Professor na Secretaria Municipal de educação de Caruaru-Pe
Endereço: Av. Amazonas, 734 - Universitário, Caruaru - PE, 55016-430
E-mail: wesleypngua@gmail.com

Suelen Cunha Agostinho
Formação: Bacharel em Ciências Biológicas
Instituição: Egressa do Curso de Ciências Biológicas da Unespar campus de Paranaguá
Endereço: Rua Comendador Correia Júnior, 117. Bairro Centro. Paranaguá-PR, Brasil. CEP: 83203-560
E-mail. suelemagostinho85@gmail.com

Kátia Kalko Schwarz
Formação: Doutorado em Zootecnica pela UEM, Bolsista DT-2 do CNPq
Instituição: Universidade Estadual do Paraná/Unespar campus de Paranaguá
Endereço: Rua Comendador Correia Júnior, 117. Bairro Centro. Paranaguá-PR, Brasil. CEP: 83203-560
E-mail. katia.kalko@unespar.edu.br

RESUMO: A caracterização da morfologia do sistema digestivo dos peixes é de fundamental importância, pois está relacionada com a sua dieta e as características do local de alimentação. O estudo foi conduzido no Laboratório Multidisciplinar de Estudos em Animais, na Universidade Estadual do Paraná, campus Paranaguá, utilizando as espécies de peixes mais frequentes no Mercado Municipal de Peixes de Paranaguá/PR – Brasil, durante o outono, com seis repetições de cada espécime: Pescada-amarela (*Cynoscion acoupa),* Pampa (*Trachinotus spp.),* Bagre (*Genidens barbus),* Peixe-galo (*Selene setapinnis),* Robalo-peva (*Centropomus parallelus),* Anchova (*Pomatomus saltatrix),* Betara (*Menticirrhus* spp.*)* e Tainhota (*Mugil brasiliensis).* Para a descrição morfológica, foram observados a boca, o esôfago, estômago, fígado, intestino e a presença ou ausência de cecos pilóricos. Ao analisar o tubo digestivo de *C. acoupa* e *Trachinotus spp.* observou-se que apesar de se estender ao longo da cavidade não preenchia totalmente em função da bexiga natatória que se estendia ao longo de todo o peritônio. Contudo, o conteúdo estomacal demonstrou morfologia condizente com o seu hábitoalimentar carnívoro. Os peixes *S. setapinnis, C. parallelus* e *P. saltatrix* também eram carnívoros principalmente por apresentarem boca grande, dentes faringeanos e mandíbulas fortes, porém, para confirmar foram esvaziados os conteúdos estomacais estando presentes restos de peixes e crustáceos. O *Menticirrhus* spp. possuíam dentes ao redor da arcada dentária e projeção da mandíbula grande e forte. No conteúdo estomacal foi observada uma sardinha inteira, caracterizando como carnívoro. Ao esvaziar o conteúdo estomacal *Genidens barbus* havia a presença de pequenos camarões, sedimentose algas se enquadrando como onívoro. E, por fim, a *Mugil brasiliensis,* que possuía o trato digestivo estendido por toda a cavidade abdominal, com intestino longo, medindo

maior que seu corpo. E, nos conteúdos digeridos, observaram-se algumas algas, sendo a única espécie herbívora presente no estudo.

PALAVRAS-CHAVE: Análise, trato digestivo, hábito alimentar.

ABSTRACT: The characterization of the morphology of the digestive system of fish is of fundamental importance, as it is related to their diet and the characteristics of the feeding place. The study was conducted at theMultidisciplinary Laboratory for Animal Studies, at the State University of Paraná, campus Paranaguá,using the most frequent fish species at the Municipal Fish Market of Paranaguá / PR - Brazil, during the fall, with six replicates of each specimen : Yellow hake (Cynoscion acoupa), Pampa (Trachinotus spp.), Catfish (Genidens barbus), Cockfish (Selene setapinnis), Sea bass (Centropomus parallelus), Bluefish (Pomatomus saltatrix), Betara (Menticirrhus spp.) and Tainhota (Mugil brasiliensis). For the morphological description, the mouth, esophagus, stomach, liver, intestine and the presence or absenceof pyloric caeca were observed. When analyzing the digestive tract of C. acoupa and Trachinotus spp.it was observed that despite extending along the cavity, it did not fully fill due to the swimming bladderthat extended along the entire peritoneum. However, the stomach contents showed a morphology consistent with their carnivorous eating habits. The fish S. setapinnis, C. parallelus and P. saltatrix werealso carnivorous mainly for having large mouth, pharyngeal teeth and strong jaws, however, to confirmthe stomach contents were emptied and the remains of fish and crustaceans were present. Menticirrhusspp. they had teeth around the dental arch and a large, strong jaw projection. In the stomach contents, an entire sardine was observed, characterizing it as a carnivore. When emptying the Genidens barbus stomach contents, small shrimps, sediments and algae were found to be omnivorous. And finally, Mugilbrasiliensis, which had the digestive tract extended throughout the abdominal cavity, with a long intestine, measuring larger than its body. And, in the digested contents, some algae were observed, being the only herbivorous species present in the study.

KEYWORDS: Analysis, digestive tract, eating habit.

1. INTRODUÇÃO

Os peixes são os mais antigos e estruturalmente simples de todos os vertebrados vivendo hoje. Eles também são abundantes em termos de espécies e de indivíduos. Cerca de 24.000 das pelo menos 30.000 espécies de peixes são conhecidas pela ciência. Os peixes compõem cerca de metade de todas as espécies de vertebrados da Terra (CASTRO *et al*., 2012).

No Brasil, por ter a costa marinha extensa, apresenta muitas espécies de peixes, constituindo-se, a pesca, um importante recurso natural renovável, contribuindo com 12 % da proteína animal consumida pelo homem (RAPOSO e FERREIRA, 2020). Desde o início dos tempos o homem tem se interessado por este grupo por se constituir em um importante recurso alimentar. As espécies de origem estuarina e marinha contribuem com cerca de 90 % da produção mundial de pescado (PAIVA, 1997).

A maioria dos peixes capturados na baia de Paranaguá e ao longo da costa do Litoral do estado do Paraná, desembarca nas docas do Mercado Municipal de Peixes. É uma quantidade de pescado variado a ser consumido pela população que geralmente desconhece a espécie que está se alimentando. A caracterização da morfologia do trato digestório dos peixes é de fundamental importância, pois está relacionada com a sua dieta, as características do local de alimentação e o estágio de desenvolvimento do indivíduo (SEIXAS FILHO *et al*., 2003; BECKER *et al*., 2010).

Os peixes apresentam diversas adaptações do sistema digestório, conforme a especialização requerida para ingerir, digerir e absorver os diferentes tipos de alimento (BALDISSEROTTO, 2009). A necessidade de adaptação a ambientes com características tão diferentes, faz com que existam espécies de peixes planctófagas, herbívoras, frugívoras, iliófagas, carnívoras, onívoras, detritívoras, dentre outras, o que torna possível a coexistência de diversas espécies no mesmo ambiente (CASTAGNOLLI, 1992).

O sistema digestivo consiste em cavidade oral, esôfago, intestinos delgado e grosso, reto e ânus e suas glândulas associadas, glândulas salivares, fígado e pâncreas. Sua função é obter a partir dos alimentos ingeridos, as moléculas necessárias para a manutenção, o crescimento e as demais necessidades energéticas do organismo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

Em peixes com estômago, o intestino inicia após o piloro; em peixes sem estômago o intestino inicia logo após o esôfago e pode apresentar um alargamento e

formar um bulbo intestinal para o armazenamento temporário do alimento em algumas espécies agástricas (WILSON & CASTRO, 2011).

O intestino dos peixes em muitas espécies consiste simplesmente de um tubo, mas algumas apresentam também os cecos pilóricos, que são projeções digitiformes da região proximal (BALDISSEROTTO, 2009). No entanto, tais generalizações devem ser aplicadas com cautela, uma vez que não somente a plasticidade fenotípica, mas também a ontogenia e a filogenia exercem grande influênciana estrutura do intestino (GERMAN & HORN, 2006).

Os intestinos longos podem ter diferentes organizações tridimensionais na cavidade celomática, em formato espiralado ou esférico, com várias torções e voltas (NRC, 2011). Nos carnívoros, o intestino é curto, mas como a quantidade de alimento ingerido é muito menor pois a quantidade de nutrientes aproveitáveis é maior, o trânsito é mais lento (BALDISSEROTTO, 2009).

Para tanto, o objetivo desse estudo foi analisar e comparar a morfologia do sistema digestivo dos peixes mais frequentes durante o período de outono no mercado municipal de peixes em Paranaguá-PR.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório Multidisciplinar de Estudos em Animais (LABMEA), na Unespar – Universidade Estadual do Paraná, campus Paranaguá, utilizando as espécies de peixes mais frequentes durante o outono de 2018, com seis repetições de cada espécime, oriundos do Mercado Municipal de Paranaguá-PR.

Para realizar o levantamento das principais espécies comercializadas em Paranaguá, foram feitas visitas às docas do Mercado Público, com o propósito de obter informações do que é coletado durante o outono.

Foram utilizados 48 exemplares de peixes frescos, ou seja, recém-pescados de: Bagre (*Genidensbarbus*), Pescada-amarela (*Cynoscion acoupa*), Betara (*Menticirrhus americanus),* Pampa (*Trachinotus spp.),* Peixe-galo (*Selene setapinnis*), Robalo-peva (*Centropomus parallelus),* Anchova (*Pomatomus saltatrix)* e Tainhota (*Mugil brasiliensis)* com seis repetições cada um. Os exemplares dos peixes foram acondicionados em caixas térmicas, e em seguida, transportados ao LABMEA para a realização das análises morfológicas. Os peixes foram pesados e medidos com balança de precisão e paquímetro, em seguida, fotografados todos os órgãos

digestivos.

Para a avaliação morfológica destes órgãos, foram realizadas no sentido ântero-posterior na região mediano-ventral de cada exemplar, para abertura da cavidade abdominal, expondo desta forma o trato digestório. Para a descrição morfológica, foram observadas a posição da boca, presença e tipos de dentes, esôfago, estômago, fígado, intestino e a presença ou ausência de cecos pilóricos.

O conteúdo estomacal dos peixes foi analisado utilizando lupa eletrônica, comparando com as referências bibliográficas específicas para identificação taxonômica e porcentual do número de estômagos onde ocorre determinado hábito alimentar.

De acordo com as bibliografias de Baldisserotto *et al.* (2014), Fischer (1999) e Figueiredo & Menezes (1980), foram identificados o nome científico de cada grupo de peixes. As principais espécies de peixes encontradas durante o período foram o bagre (*Genidens barbus*), pescada-amarela (*Cynoscion acoupa*), betara (*Menticirrhus americanus),* anchova (*Pomatomus saltatrix*), pampa (*Trachinotus spp.),* peixe-galo (*Selene setapinnis*), robalo-peva (*Centropomus parallelus),* e tainhota (*Mugil brasiliensis).*

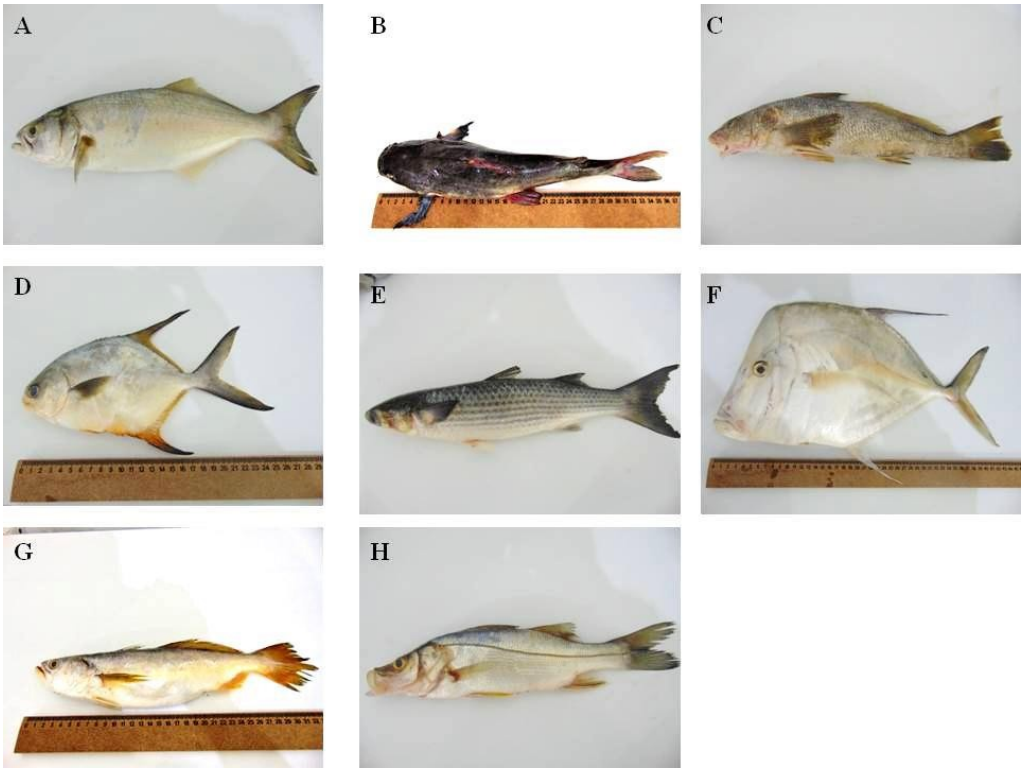
O comprimento intestinal (CI) foi obtido por meio da relação CI = Ci/Cp, a relação do comprimento do intestino (Ci) com o do corpo (Cp), conforme a descrição de Bertin (1958).

Todos os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo programa Minitab®, relacionando o comprimento do intestino, fígado e do corpo dos peixes.

3. RESULTADOS

Das cinco visitas ao Mercado Municipal de Paranaguá, PR, foram obtidas ao total de quarenta e oito (48) espécimes de peixes. Os peixes capturados foram identificados a taxonomia, classificados e listados com as informações das suas características (Figura I).

Figura I. Representantes das espécies analisadas morfologicamente. (A) *Pomatomus saltatrix,* (B) *Genidens barbus,* (C) *Menticirrhus americanus,* (D) *Trachinotus spp.,* (E) *Mugil brasiliensis,* (F) *Selene setapinnis,* (G) *Cynoscion acoupa,* (H) *Centropomus parallelus.*



Fonte: O autor.

A morfometria dos peixes foi diferente significativamente (P<0,05) no sentindo de hábito alimentar, sendo que os peixes herbívoros apresentaram médias maiores que a dos carnívoros e onívoros. As medidas morfoanatômicas dos órgãos do tubo digestivo encontram-se resumidamente na Tabela I.

Tabela I. Médias das medidas morfométricas dos órgãos dos tubos digestivos das espécies analisadas morfologicamente. (Pampo) *Trachinotus spp.,* (P. Amarela) *Cynoscion acoupa,* (Bagre) *Genidens barbus,* (P. Galo) *Selene setapinnis,* (Robalo) *Centropomus parallelus,* (Anchova) *Pomatomus saltatrix,* (Betara) *Menticirrhus americanus,* (Tainhota) *Mugil brasiliensis.*

Peixes	Comp. Corpo (cm)	Comp. Fígado (cm)	Comp. Intestino (cm)
Pampo	24,833 [e f]	4,750 [d]	14,833 [b c]
P. Amarela	29,167 [c]	4,900 [d]	11,667 [e]
Bagre	32,33 [b]	6,233 [a b]	13,333 [c d e]
P. Galo	40,833 [a]	6,1167 [a b]	15,833 [b]
Robalo	27,833 [c d]	5,717 [b c]	16,617 [b]
Anchova	26,167 [d e]	5,3000 [c d]	13,917 [c d]
Betara	23,167 [f]	4,900 [d]	12,250 [d e]
Tainhota	41,833 [a]	6,367 [a]	49,667 [a]

Letras diferentes, os dados são significativos (P<0,05) pelo Teste de Tukey.

Os valores médios dos pesos do corpo como um todo, o fígado e intestino, apresentaram-se de acordo com as teorias de morfologias comparativas de peixes com hábitos alimentares diferenciados. Na qual, os peixes onívoros (*G. barbus*) e herbívoro (*Mugil brasiliensis)* obtiveram médias análogas. Os restantes dos peixes de hábitos alimentares carnívoros obtiveram valores menos significativos, resumidamente na Tabela II.

Tabela II. Valores Médios dos pesos dos órgãos que compõem o tubo digestório dos peixes analisados morfologicamente. (Pampo) *Trachinotus spp.,* (P. Amarela) *Cynoscion acoupa,* (Bagre) *Genidens barbus,* (P. Galo) *Selene setapinnis,* Robalo)*Centropomus parallelus,* (Anchova) *Pomatomus saltatrix,* (Betara) *Menticirrhus americanus,* (Tainhota) *Mugil brasiliensis.*

Peixes	Peso Corpo (g)	Peso Fígado (g)	Peso Intestino (g)
Pampo	288,5 [c]	2,13 [e]	37,00 [c]
P. Amarela	300,5 [c]	3,43 [c]	33,50 [c]
Bagre	509,75 [a]	2,80 [d]	61,67 [a]
P. Galo	423,3 [b]	8,48 [b]	44,00 [b]
Robalo	302,17 [c]	1,86 [e f]	34,17 [c]
Anchova	321,00 [c]	3,75 [c]	41,67 [b]
Betara	288,67 [c]	1,35 [f]	30,00 [c]
Tainhota	486,00 [a]	10,41 [a]	59,50 [a]

Letras diferentes, os dados são significativos (P<0,05) pelo Teste de Tukey.

4. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

4.1 CAVIDADE ORAL

De acordo com as análises das cavidades orais de *Cynoscion acoupa*, *Menticirrhus americanus, Pomatomus saltatrix*, *Trachinotus spp., Selene setapinnis*, *Centropomus parallelus* observou-se a presença de inúmeros dentes pontiagudos que os classificam como carnívoros predadores. Porém, a espécie *Genidens barbus* possuía dentições menores e presença de dentes faringeanos, comumente encontrado em peixes onívoro. E, por fim, os *Mugil brasiliensis,* na qual as dentições estavam ausentes, havendo a presença apenas dos dentes faringeanos, colocando-os como herbívoro (Figura II).

Figura I. Cavidades orais dos representantes das espécies analisadas morfologicamente. (A) *Centropomus parallelus,* (B) *Menticirrhus americanus*, (C) *Pomatomus saltatrix*, (D) *Genidens barbus,* (E) *Selene setapinnis*, (F) *Cynoscion acoupa*, (G) *Trachinotus spp.,* (H) *Mugil brasiliensis.*

Fonte: O autor.

4.2 CAVIDADE PERITONEAL

A cavidade peritoneal de *Genidens barbus, Cynoscion acoupa*, *Menticirrhus americanus, Pomatomus saltatrix*, *Trachinotus spp., Selene setapinnis*, *Centropomus parallelus,* é relativamente pequena, se comparada à massa muscular dos peixes, exceto o *Mugil brasiliensis* que se observou a cavidade abdominal proporcional a sua massa corporal.

O tubo digestório dos espécimes analisadas apesar de se estenderem ao longo da cavidade não a preenchiam totalmente em função do grande volume ocupado pela bexiga natatória que se estendia ao longo de todo o peritônio, desde o terço anterior até o reto. No entanto, foi observado que o tubo digestório do *Mugil brasiliensis* preenchia toda a cavidade peritoneal, facilitando a identificação de seu hábito alimentar.

Os estômagos dos peixes analisados em geral estavam localizados na porção anterior da cavidade celomática, limita-se anteriormente pelo esôfago, sendo recoberto nas faces direita e esquerda pelos cecos pilóricos.

Os cecos pilóricos em relação ao tubo digestório se encontraram invaginados a partir da porção inicial do intestino médio, recobrindo em ambas as faces, direita e esquerda, o estômago.

4.3 ESÔFAGO

Os esôfagos destes peixes geralmente apresentavam um formato de formato tubular e relativamente curto, com paredes distensíveis, apresenta-se contínuo à faringe e desemboca na região cárdica do estômago, sendo que a passagem do alimento por este órgão é regulada parcialmente pelas pregas longitudinais espessas, separadas por profundos e amplos sulcos que se distingue visualmente o padrão de sua mucosa daquelas que foram observadas no estômago.

4.4. ESTÔMAGO

Ao analisar o estômago de *C. acoupa,* verifica-se que o órgão se estende por cerca de 50 % do espaço da cavidade celomática com formato cecal em “Y”, com as regiões gástricas bem definidas. A disposição das pregas no estômago presente desde o esôfago onde ocorre a recepção do alimento, até a região pilórica, através da qual sucederá o esvaziamento do estômago e consequente passagem do alimento processado para o intestino, onde naturalmente acontece a absorção.

O estômago do *G. barbus* é um tubo simples alongado, curvado em forma de “J”. Apresenta pregas musculares bem definidas, o qual facilita a entrada dos

alimentos. Os estômagos foram esvaziados e verificou-se a presença de restos de poliquetas e sedimentos, tratando-se de um hábito onívoro.

A morfologia do estômago do *M. americanus,* apresentou um órgão curto em forma de bolsa alongada. Ao analisar os conteúdos estomacais foi verificado a presença de restos de poliquetas e crustáceos, enquadrando ao hábito alimentar carnívoro.

Para o *P. saltatrix,* a morfologia do estômago seguiu a mesma descrição de *M. americanus*, em forma de bolsa alongada. Todos os espécimes possuíam em seu conteúdo estomacal a presença de restos de crustáceos.

O formato dos órgãos estomacais de *Trachinotus spp* e *S. setapinnis* apresentaram-se em forma de tubo simples em "J" de forma geral, ao analisar seus conteúdos estomacais, havia presenças de restos de crustáceos e alguns pequenos peixes. Verificou-se que seus hábitos alimentares se descreveram como carnívoros.

E, ao analisar o estômago do *C. parallelus* que se distribui de forma simples em forma de "Y" curvada. Os resultados se assemelharam ao restante dos peixes carnívoros anteriores, porém, de hábito alimentar preferencialmente piscívoro, pois em seu estômago haviam presenças de pequenos peixes e crustáceos.

No *M. brasiliensis*, o estômago é dividido em duas porções: cárdica e pilórica. A primeira é responsável pela digestão enzimática e a segunda, trata-se do formato em moela, que tem como função estritamente mecânica na digestão, característico de peixes herbívoros.

Em geral, as regiões cárdicas e fúndicas das oito espécimes estudadas estão alinhadas em um mesmo plano, enquanto a região pilórica encontra-se perpendicular a este plano. As regiões cárdica e pilórica, responsáveis pelo armazenamento e esvaziamento, respectivamente do alimento no estômago, apresentaram diâmetros bastante distintos, onde a região cárdica é evidentemente maior, e a pilórica proporcionalmente menor.

4.5 INTESTINO

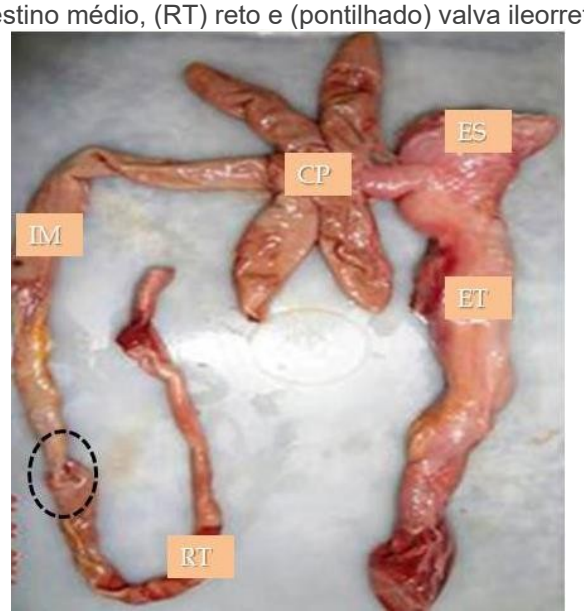
Os intestinos foram analisados cautelosamente em laboratório e encontram-se ilustrados na figura V.

O intestino e reto de *C. acoupa* é retilíneo e relativamente curto, com formato tubular. Dispõe-se no tubo digestivo em forma de "N". Sua porção inicial se dá no esfíncter pilórico e finaliza-se na valva ileorretal, onde se inicia o reto. Foi observado uma redução gradativa de diâmetro até o ânus.

As pregas da mucosa intestinal se ajustam em rede, com vilosidades alongadas predominantemente em sentido longitudinal, apresentando-se mais longas no intestino médio do que na sessão do reto. Entretanto, macroscopicamente, o tecido do reto apresenta-se mais liso em função da ausência de vilosidades, mas com pregas, orientadas longitudinalmente, para direcionar o fluxo do bolo fecal vindo do intestino médio para o ânus.

A transição entre o intestino médio e o reto é evidenciada pela presença de uma constrição observada externamente bem como, na parte interna por um marcado espessamento muscular, formando a estrutura denominada valva ileorretal (Figura III).

Figura III: Intestino médio: segmento que compreende o intestino propriamente dito, medido a partir do esfíncter pilóricoaté a valva ileorretal: (ET) estômago, (ES) esôfago, (CP) cecos pilóricos, (IM) intestino médio, (RT) reto e (pontilhado) valva ileorretal.



Fonte: O autor.

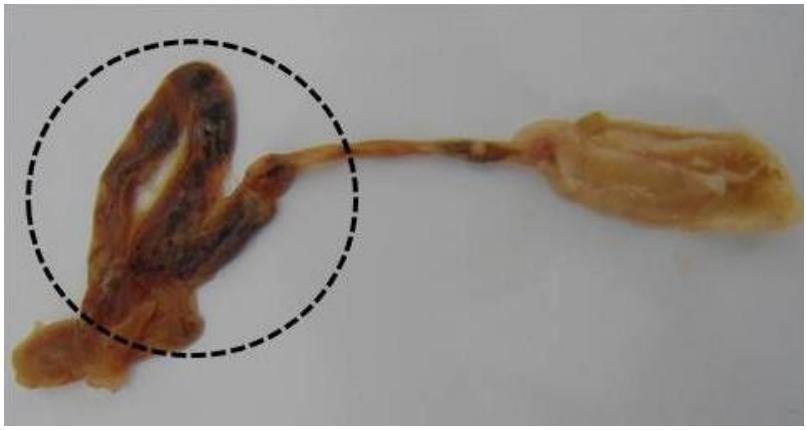
O *G. barbus* possuí um intestino curto comparado a sua massa muscular, em formato tubular simples. Porém, não foi observado cecos pilóricos, que são responsáveis para aumentar a área do intestino de absorção, caracterizando o bagre como onívoro. O seu órgão intestinal é bem vascularizado, apresentando pequeno comprimento do intestino, que pode proporcionar maior absorção de nutrientes do intestino posterior, de acordo com Baldisserotto, 2009.

A separação do intestino médio e reto não é explicitamente evidenciada ao se observar externamente, mas internamente pode-se observar um estreitamento muscular.

O intestino do *M. americanus* é relativamente curto e forma duas alças

longitudinais, característico de peixes carnívoros. Seu comprimento corresponde a cerca de um terço do comprimento padrão do peixe. Sua superfície interna é formada por pequenas papilas e não apresenta sulcos. De sua área próxima ao piloro, emergem alguns cecos pilóricos, das quais a posterior está localizada sob a alça intestinal anterior (Figura IV).

Figura IV: Vista superior do intestino do *M. americanus* na qual é relativamente curto formando duas alças longitudinais.



Fonte: O autor.

O P. saltatrix apresentou intestino curto comparando-se a massa corporal, em formato tubular em "N". Sua morfologia intestinal lhe caracteriza como uma espécie carnívora. Além do mais, possuem alguns cecos pilóricos bem evidenciados, presentes logo após o estômago.

Os espécimes de *Trachinotus spp.* demonstraram um intestino curto, em formato de tubo simples. A morfologia do intestino proximal, mediano e distal é bem evidenciada. O intestino médio vem imediatamente após o esfíncter pilórico, limitando-se caudalmente com o intestino posterior.

O intestino médio e reto da *S. setapinnis* é um tubo retilíneo e curto, dispondo-se em forma de "J". Observa-se que a morfologia do intestino médio e reto desse espécime é bem irrigada com presençade vários cecos pilóricos. Os cecos pilóricos estão evidenciados ao final do estômago e início do intestino proximal, sendo o espécime com o maior número de cecos pilóricos analisados durante o desenvolvimento do estudo morfológico.

O intestino do *C. parallelus* representa quase 80 % do comprimento total do tubo digestório. O intestino é curto, do tipo cilíndrico simples e enrolado no formato em "N" na cavidade abdominal, formando os três segmentos: o intestino proximal, que

é ligado ao ceco pilórico, intestino médio e o intestino distal sendo a parte final do último segmento terminando em um esfíncter.

O intestino do *M. brasiliensis* é o maior em comprimento se comparado com as espécies anteriores. A morfologia intestinal é maior que seu tamanho do corpo, em formato de um tubo longo retilíneo, todo esse órgão é envolto por uma espessa camada de tecido conjuntivo adiposo. No entanto,nos espécimes analisados de *M. brasiliensis* há ausência de cecos pilóricos.

Figura V: Vista superior dos intestinos dos espécimes analisados, evidenciando o intestino médio, reto e presença ouausência de cecos pilóricos.

Fonte: O autor.

5. DISCUSSÃO

As análises morfológicas do trato digestivo são essenciais para a compreensão da biologia das espécies, da fisiologia e para a criação de peixes, conforme observado em outros estudos como Buddington *et al*. (1987), Galvão *et al*. (1997) e Olsson (2011).

O hábito alimentar carnívoro em que *M. americanos, C. acoupa*, *P. saltatrix*, *Trachinotus spp., S. setapinnis* e *C. parallelus* apreendem as presas, são similares aos onívoros, como no caso da espécie *G. barbus* , segundo Camargo & Isaac 2004 ;

Garavello & Britski, 1988. Na qual engolem as presaspor inteiro, sem a preparação pré-digestiva quando o alimento é de origem animal, sendo diferente doque acontece com os alimentos de origem vegetal, que são triturados e macerados, através da dentição oral e faringeana, antes de serem digeridas (RODRIGUES *et al*., 2006). Quanto a ingestão de presas grandese inteiras Hahn *et al.* (1999) discutiram que por as presas ingeridas serem relativamente grandes, comum elevado valor nutricional e facilmente digeríveis, pode diminuir o tempo para saciar um carnívoro.Ainda sobre o hábito alimentar, no caso da *M. brasiliensis* observa-se que a cavidade oral é revestida por um epitélio abundante e pregas complexas e ramificadas no esôfago (GALVÃO *et al*., 1997). É evidente que apesar do material orgânico e a energia se concentrarem nos menores detritos (CARDONA, 2016) e os Mugilídeos consigam selecionar partículas tão finas (BLAY, 1995; STEPHEN & BLABER, 1976), ainda assim ingerem areia e algumas algas, considerando seu hábito alimentar herbívoro/bentofago, sendo estes os componentes principais da dieta (OLIVEIRA e SOARES 1996).

Ao analisar os esôfagos de *M. americanos, C. acoupa*, *P. saltatrix*, *Trachinotus spp., S. setapinnis*, *C. parallelus*, *G. barbus e M. brasiliensis* verificou-se que é similar ao da maioria dos Teleosteos (Amaral, 1990) e os protótipos das mucosas esofágicas analisadas das espécies são longitudinais, relativo com a maleabilidade da parede desse órgão, o que o torna adequado para a entrada e ligeiro transporte de presas inteiras ao estômago (SEIXAS FILHO, 1998, BALDISSEROTTO *et al*., 2014).

Segundo Zavala-Camin (1996) descreveu que de forma geral, os esôfagos dos peixes ósseos são um órgão tubular, normalmente curto. Essa característica corresponde com os resultados obtidos através desse estudo, na qual, o esôfago mostrou-se tubular e curto quando conferido ao comprimentodo estômago. Segundo o mesmo autor, a morfologia e o comprimento do esôfago podem estar relacionados apenas à função de transporte de alimento, visto que, normalmente, a digestão se inicia no estômago.

Na grande maioria das espécies analisadas não houve a presença de esfíncter entre o esôfago e o estômago, tendo um seguimento anatômico do esôfago com o estômago (AMARAL, 1990; RODRIGUES *et al.*, 2006). Segundo Godinho (1970), o término entre esôfago e estômago é apontado, macroscopicamente, por um estreitamento na região de transição entre estes dois órgãos.

Os estômagos analisados morfologicamente das espécimes estudados, são

dos tipos “J”, “N” e“Y”, como observado por Amaral (1990) em teleosteos estudados por Hernandez-Blazquez *et al.* (1990), com estômago sifonal, em *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) que pode apresentar uma forma intermediária entre os tipos de peixes ósseos estudados (BRACCINI, 2002). Os tipos de estômagos, observados de carnívoros e onívoros permite a ingestão de presas inteiras, permitindo também as de maior porte, muito característico de espécies predadoras e ictiófagas em decorrência da permeabilidade das paredes (MORAES *et al.*,1997). Já o estômago da *M. brasiliensis* é dividido em duas porções comfunções digestivas (GALVÃO *et al*., 1997) e que, embora não se tenha estudos específicos, possivelmente atue na absorção de alguns nutrientes como relatado para outras espécies de peixes (BAKKE *et al.*, 2010).

Tendo-se em conta as morfologias anatômicas obtidas neste estudo, como o esquema de pregas da mucosa, a região cárdica e fúndica dos estômagos são responsáveis pela entrada e armazenamento do alimento, mutuamente, enquanto a região pilórica é responsável pelo esvaziamento gástrico (Menin; Mimura, 1993). Entre os espécimes predadores, ictiófagos, podem ocorrer diferentes adaptações no estômago, os quais se denotam, maiormente ao tamanho das regiões cárdica e cecal. Como por exemplo, *Hoplias malabaricus* (BLOCH, 1794) a sua região cárdica é maior, assim também como foi observado nas espécies em estudo, em contrapartida *Acestrorhynchus britskii* (Menezes, 1969) e *Acestrorhynchus lacustris* (LUTKEN, 1875) a região cecal apresenta-se mais ampla em dimensões, de acordo com (MENIN, 1993).

Contudo, a região pilórica dos espécimes analisadas, como a de outras espécies de Teleosteos com hábitos alimentares diferentes (MENIN, 1988; MIMURA, 1993), à custa de sua forma, de dimensões, do padrão de pregas da mucosa e, principalmente, espessura de sua parede, pode estar relacionada com o esvaziamento gástrico, sendo assim, o transporte do material já digerido para o intestino médio.

Percebem-se nos carnívoros e onívoros analisados, cecos pilóricos (apêndices), com vários números e formas que podem ser apresentados em diferentes espécies (MENIN, 1988; HAHN, 1991; LOGATO, 1995).

O número de cecos pode variar de zero até milhares (BALDISSEROTTO *et al.,* 2014). Por enquanto não está bem definido se há relação entre a presença de cecos pilóricos e a dieta do peixe, pois eles ocorrem nos peixes carnívoros, onívoros e

herbívoros. Porem é mais desenvolvido em comprimento nos carnívoros, reduzidos ou ausentes nos herbívoros (ROTTA, 2003). Os espécimes com pouca quantidade ou nenhum ceco pilórico ocorrem maior desenvolvimento da mucosa e/ou maior comprimento do intestino médio para compensar a escassez ou ausência dessas estruturas (ROTTA, 2003; BALDISSEROTTO *et al.,* 2014). O estudo morfológico dos cecos pilóricos permite concluir que elescolaboram com a expansão da superfície de absorção dos nutrientes que ocorrem no intestino, sem aumentar o comprimento ou espessura.

Averiguou-se nas oito diferentes espécies estudadas que a amplitude do intestino médio é maiorna porção inicial, da qual se reentrançam os cecos pilóricos, os mantendo, após essa porção, relativamente contínuo. E, para o intestino posterior (reto), ocorreu redução sucessiva de amplitude até o ânus. Isso foi averiguado por Logato (1995) em *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887) e *Leporinus macrocephalus* Rodrigues & Menin (2008) espécies de hábitos alimentares onívoros, declararam observações análogas.

Os modelos de enrolamento dos intestinos analisados aumentam de complexidade a partir de um arranjo aproximadamente retilíneo nos carnívoros, até assumir configuração altamente enovelada, em Iliófagos como o *Prochilodus lineatus* (VALENCIENNES, 1836), (MORAES *et al.,* 1997). Os modelos de enrolamento apresentados pelas espécies estudadas representam a caracterização de uma alimentação com altos valores nutricionais, semelhantes para os carnívoros, onívoros e herbívoros.

Segundo Baldisserotto *et al*. (2014) o comprimento do intestino é muito variável entre os peixes e possui relação com o comprimento corporal e a dieta. Por intermédio das análises morfológicas foi possível verificar que as espécies carnívoras e onívoras possuem intestinos curtos e herbívoros, intestino longo. O coeficiente intestinal foi analisado para detectar possíveis relações do tamanho dos intestinos com as dietas das espécies.

Os valores calculados estatisticamente são característicos de espécies carnívoras, onívoras e herbívoras, como por exemplo, o Dourado *Coryphaena hippurus* (LINNAEU, 1758) e o Robalo *Centropomus undecimalis* (BLOCH, 1792). As principais características morfológicas do tubo digestivo das espécies estudadas podem ser consideradas semelhantes às da maioria de peixes carnívoros apresentando, estômago grande e intestino relativamente curto (RODRIGUES;

MENIN, 2008), herbívoro apresentando estômago reduzido ao se comparar com o intestino longo e onívoro com os mesmos órgãos intermediários (BALDISSEROTTO *et al.,* 2014).

Assim sendo, pode-se afirmar que nos tubos digestórios das espécies carnívoras, onívoras e herbívoras existem várias adaptações morfológicas ao hábito alimentar, sendo, no tubo digestivo, as estruturas dos estômagos e o comprimento dos intestinos as características mais expressivas que os diferem dos hábitos alimentares.

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados da morfologia macroscópica interna do sistema digestivo, comprimento e análise do conteúdo estomacal, foi possível comparar os hábitos alimentares dos peixes mais frequentes durante o outono no Mercado Municipal de Peixes em Paranaguá.

Também, as análises morfológicas forneceram resultados para auxiliar outras pesquisas que possam trabalhar com espécies de peixes do Litoral do Paraná. E, ainda, ampliando as informações dos pescados a ser consumido pela população que geralmente desconhecem sobre as espécies que estão se alimentando.

Contudo, as análises dos tubos digestivos das espécimes do litoral do Paraná apresentaram características morfológicas dos órgãos condizentes com os seus hábitos alimentares, apresentando adaptações morfológicas para tanto, como nos esôfagos, estômagos, intestinos, cecos pilóricos que ampliam a área intestinal, possuindo ainda, características semelhantes às de outros teleósteos que também evidenciam os mesmos hábitos alimentares.

REFERÊNCIAS

Amaral, A.A. (1990) **Anatomia comparativa do aparelho digestivo de Acestrorhynchus britskii Menezes, 1969 e Acestrorhynchus lacustris Reinhardt, 1874 (Pisces, Characidae, Acestrorhynchinae).** Revista Ceres, v. 37, n. 212, p. 277-288.

Bakke, A.M.; Glover, C.; Krogdahl, Â. (2010) **Feeding, digestion and absorption of nutrients.** FishPhysiology, v.30, p.57-110.

Baldisserotto, B**.** (2009) **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM. 350p.Baldisserotto, Bernardo; Cyrino, Jose Eurico Possebon; URBINATI, Elisabeth Criscuolo. (2014) **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce.** Jaboticabal: FUNEP; UNESP.

Becker, A. G., Gonçalves, J. F.; Garcia, L. O. et al. (2010) **Morphometric parameters comparisonsof the digestive tract of four teleosts with different feeding habits**. Ciência Rural, Santa Maria, v. 40, p. 862-866.

Bertin I. (1958) Appareil digestif. In: GRASSE, P.P. (Ed.) **Traité de zoologia**. Paris: Masson. v.13, p.302-1248.

Blay, J., 1995: **Food and feeding habits of four species of juvenile mullet (Mugilidae) in a tidal lagoon in Ghana.** Journal of Fish Biology., v.46, p. 134–141.

Braccini, M. C. (2002) **Modificações morfológicas e histológicas do estômago de Hoplias malabaricus (Bloch, 1794) (Teleostei, Characiformes, Erythrinidae) relacionadas à digestão.** Dissertação (mestrado). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 68 pp.

Buddington, R.K. et al. (1987) **Genetic and phenotypic adaptation of intestinal nutrient transportto diet in fish.** Journal of Physiology, v.393, p.261-281.

Camargo, M. & Isaac, V. (2004). **Food categories reconstruction and feeding consumption estimates for the Sciaenid Macrodon ancylodon (Bloch & Schneider), and the congenerics fishesStellifer rastrifer (Jordan) and Stellifer naso (Jordan) (Pisces, Perciformes) in the Caeté Estuary,Northern Coast of Brazil.** Revista Brasileira de Zoologia, v.21, p. 85-69.

Cardona, L., (2016): **Food and Feeding of Mugilidae.** Biology, Ecology and Culture of Grey Mullets(Mugilidae). Taylor and Francis Group, p. 165–195.

Castagnolli, N. (1992) **Piscicultura de água doce.** Jaboticabal: Funep, p. 189. Castro, P.; Huber, M. E. (2012) **Biologia marinha**. 8ª ed. Porto Alegre: AMGH.

Figueiredo, J. L. & N.A. Menezes. (1980). **Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil. II.Teleostei (II).** São Paulo, Museu de Zoologia, Univ. São Paulo, p. 90.

Galvão, M. S. N., Fenerich-Verani, N., Yamanaka, N., Oliveira, I. R. (1997) **Histologia do sistema digestivo da tainha Mugil platanus Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) durante as fases larval e juvenil**. Boletim do Instituto de Pesca, v. 24, p. 91–100.

Garavello, J.C.; Britski, H.A. (1988) ***Leporinus macrocephalus* sp. da Bacia do Rio Paraguai (Ostariophysi, Anastomidae).** Naturalia, Rio Claro, v.13, p.67-74.

German D. P., Horn M. H. (2006) **Gut length and mass in herbivorous and carnivorous**

pricklebackWshes (Teleostei: Stichaeidae): ontogenetic, dietary, and phylogenetic e Vects. Mar Biol (in press).Godinho, H. M. (1970) **Considerações gerais sobre anatomia de peixes. In: Poluição e piscicultura.**São Paulo: Faculdade de Saúde Pública e Instituto de Pesca, CPRN – Secretaria da Agricultura. p. 118-122.

Hahn, N.S., Loureiro, V.E.; Delariva, R.L. (1999) **Atividade alimentar da curvina Plagioscion squamosissimus (Heckel, 1840) (Perciformes, Sciaenidae) no rio Paraná.** Acta Scientiarum, p. 309-314.

Hernandez-Blazquez, F. J.; Ferreira, N.; Carvalho, C. A. F. de and Ferri, S. (1990) **Morphological aspects of the esophagus and stomach of a freshwater iliophagus fish under scanning electron microscopy.** Gegenbaurs morphologisches Jahrbuch, v. 136, n. 1, p. 119-125.

Junqueira, L.C.U. & Carneiro, J. (2008) **Histologia Básica.** 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.524.

Logato, P.V.R. (1995) **Anátomo-histologia funcional do aparelho digestório do pacu, Piaractus mesopotamicus Holmberg, 1887 (Characiformes, Characidae, Myelinae).** Viçosa, MG: UFV, p. 118.

Menin, E.; Mimura, O. M. (1993) **Anatomia comparativa do estômago de três peixes Teleostei de água-doce de hábito alimentar ictiófago**. Revista Ceres, v. 40, p. 203-222. Moraes, M. F. P. G.; Barbola, I. F.; Guedes, E. A. C. (1997) **Alimentação e relações morfológicas com o aparelho digestivo do "curimbatá", Prochilodus lineatus (Valenciennes) (Osteichthyes, Prochilodontidae), de uma lagoa do Sul do Brasil.**

Revista Brasileira de Zoologia, v. 14, n. 1, p. 169-180. NRC TNRC (2011) **Exigências nutricionais de peixe e camarão**. Academia Nacional de Imprensa, Washington, DC.

Oliveira, I. R., Soares, L. S. H. (1996) **Alimentação da Tainha Mugil platanus Günter, 1880 (Pisces:Mugilidae), da Região Estuarino-Lagnar de Canaéia, São Paulo, Brasil**. Boletim do Instituto de Pesca, v. 23, p. 95–104.

Olsson, C. (2011) **GUT ANATOMY AND MORPHOLOGY** | Gut Anatomy, In: Encyclopedia ofFish Physiology. Elsevier, p. 1268–1275.

Paiva, M.P. (1997) **Recursos pesqueiros estuarinos e marinhos do Brasil**. Ed EUFC, Fortaleza. Raposo, Boaz Ramos e Ferreira, Daniele Sayuri Fujita (2020). **Diagnóstico do consumo de peixe nacomunidade do contão, munícipio de Pacaraima (RR).** Brasilian Journal of Development, v. 6, n. 2,p. 6156-6169.

Rodrigues, S. S. N.; Menin, E. (2008) **Anatomia do tubo digestório de Leporinus macrocephalus (Characiformes, Anostomidae) em relação a seu habitar alimentar.** Bioscience Journal, v. 24, n. 3,p. 86-95.

Rodrigues, S. S.; Navarro, R. D.; Menin, E. (2006) **Adaptações anatômicas da cavidade bucofaringiana de *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Characiformes, Anostomidae) em relação ao hábito alimentar.** Biotemas, v. 19, n. 1, p. 51-58.

Rotta, M. A. (2003) **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura.** Corumbá: Embrapa Pantanal. P.48.

Seixas-Filho, J. T., Brás, J. M., Gomide, A. T. M., Oliveira, M. G. A., Donzele, J. L.; Menin, E.

(2003)**Anatomia funcional e morfometria do intestino do Teleostei (Pisces) de água doce surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*, Agassiz, 1829**). Revista Brasileira Zootecnia, v. 30, p. 01-13.

Stephen, J. M.; Blaber, F. L. S., (1976) **The food and feeding ecology of Mugilidae in the St. Lucialake system.** Biological Journal of the Linnean Society, v. 8, p. 267–277.

Wilson J. M.; Castro L. F. C. (2011) **Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes**.In: Grossell M, Farrell AP, Brauner CJ. The multifunctional gut of fish. New York: Academic Press, p. 2-44.

Zavala-Camim, L. A. (1996) **Introdução aos estudos sobre alimentação natural em peixes.** Maringá: Eduem, p. 129.

CAPÍTULO 13

SISTEMA DE INFORMAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL: PERCEPÇÃO DE ESTUDANTES, PROFISSIONAIS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DA MEDICINA VETERINÁRIA E DE VETERINÁRIOS AUTÔNOMOS DO ESTADO DE SERGIPE QUANTO À NOTIFICAÇÃO OBRIGATÓRIA DE DOENÇAS AO SERVIÇO VETERINÁRIO OFICIAL

Gabriela Mendes de Araújo
Estudante de graduação
Universidade Federal de Sergipe, Campus do Sertão
Endereço: Trav. José Pereira de Melo, 59A, CEP: 49.680-000, Nossa Senhora da Glória, Sergipe, Brasil
E-mail: bymends_ufs@hotmail.com

Paula Regina Barros de Lima
Doutora
Universidade Federal de Sergipe, Campus do Sertão
Endereço: Amazonas, 126, Residencial Bela Vista/CEP: 49.680-000, Nossa Senhora da Glória, Sergipe,Brasil
E-mail: paularbl@hotmail.com

Kalina Maria de Medeiros Gomes Simplício
Doutora (com Pós-doutoramento concluído) Universidade Federal de Sergipe, Campus do Sertão
Endereço: R. Maranhão, 110, Residencial Padre León Gregório/ CEP: 49.680-000, Nossa Senhora da Glória,Sergipe, Brasil
E-mail: kalinamms@hotmail.com

José Lopes da Silva Júnior
Mestre
Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária do estado de Pernambuco – ADAGRO
Endereço: Av. Beberibe, 2616, Apto. 05 A, Fundão/CEP: 52.130-035, Recife, Pernambuco, Brasil
E-mail: jjuniorvet@gmail.com

Kaila Angélica Alves dos Santos
Bacharel em Medicina VetegrináriaMédica Veterinária Autônoma
Endereço: Luis José da Silva, 294, CEP: 49.680-000, Nossa Senhora da Glória, Sergipe, Brazil
E-mail: alves.kailaangelica@hotmail.com

Anna Giselle Cavalcanti Vaz Mendes Silva
Médica Veterinária Autônoma
Endereço: Barão de Nazaré, 1311, CEP: 55.295-135, Garanhuns, Pernambuco, Brazil
E-mail: aninhavaz@gmail.com

Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco
Veterinarian, PhD, Professor at Universidade Federal do Maranhão, registered under CPF number 033.529.973-30
Resident at R. Maria do Socorro de Macedo Claudino, 6840, CEP: 64.073-445, Teresina, Piauí, Brazil
E-mail: yndyranayan1@hotmail.com

RESUMO: Doenças de notificação obrigatória devem ser levadas ao conhecimento dos órgãos competentes logo que detectadas ou sob suspeita. O número ainda incipiente dessas notificações motivou a pesquisa cujo objetivo foi verificar a percepção de estudantes, profissionais de instituições de ensino da Medicina Veterinária e de veterinários do Estado de Sergipe quanto à notificação obrigatória de doenças de animais e descobrir os principais entraves na captação dessas informações pelo Serviço Veterinário Oficial - SVO. Assim, foi aplicado um questionário semiestruturado para 135 participantes, sendo 82 % estudantes, 7 % professores e técnicos das instituições de Ensino Superior de Medicina Veterinária do estado de Sergipe e 11 % veterinários atuantes em diversas áreas de competências. Apesar de 87 % afirmarem conhecer a lista de notificação obrigatória, apenas 43 % sabiam que qualquer cidadão poderia notificar e 69 % não sabiam como fazer de forma correta. Na percepção de 100 % dos entrevistados, a notificação obrigatória de doenças de animais de produção é considerada uma atitude importante, mas ainda requer uma melhor divulgação nessa temática tanto para profissionais como para o público em geral, especialmente os ligados à produção animal. Os participantes demonstraram desinformação quanto às doenças que requerem notificação. Além de educação sanitária adequada para cada público-alvo, uma maior integração entre as instituições, veterinários e produtores rurais foram elencados pelos entrevistados. Treinamento, aumento da capilaridade do serviço também foram sugestões para aprimorar a captação e registro das notificações de doenças dos animais no estado de Sergipe.

PALAVRAS-CHAVE: Epizootias, defesa sanitária animal, lista da Organização Mundial de Saúde Animal (lista OIE).

ABSTRACT: Mandatory reporting diseases should be brought to the attention of oficial services as soon as they are detected or suspected. The still incipient number of oficial notifications motivated this research whose aim was to verify the perception of students, professionals from Veterinary Medicine teaching institutions and veterinarians in the State of Sergipe regarding the mandatory notification of animal diseases and to discover which are the main obstacles in obtaining these information by the Official Veterinary Service - OVS. Thus, a semi-structured questionnaire was applied to 135 participants, where 82 % were students, 7 % were professors and technicians from Veterinary Medicine Colleges in the state of Sergipe and 11 % veterinarian practitioners working in various areas of competence. Although 87 % were aware of the existence of a mandatory notification list, only 43 % knew that any citizen could make the notification and 69 % did not know how to do it correctly. All 100 % of the interviewees consider the mandatory notification of diseases in farm animals important, but this issue still requires a better dissemination among both professionals and the general public, especially people related to animal production. Participants demonstrated disinformation regarding animal diseases that require notification. In addition to adequate health education for each target audience, greater integration

between institutions, veterinarians and rural producers was listed by the consulted public. Training and increased service coverage were also suggestions to improve animal disease notifications in the state of Sergipe.

KEYWORDS: Epizooties, animal health defense**,** World Organization for Animal Health List (WOAHlist).

1. INTRODUÇÃO

O conceito para a Organização Mundial de Saúde é de que o “Sistema de Informação em Saúde é um mecanismo de coleta, processamento, análise e transmissão da informação necessária para se organizar e operar os serviços de saúde e, também, para a investigação e o planejamento com vistas ao controle de doenças.” (CASTRO, 2003).

As listas para as doenças de notificação compulsória em vigência no Brasil são vinculadas principalmente ao Ministério da Saúde (MS) e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A Organização Mundial de Saúde Animal – OIE incentiva que cada país-membro deve elaborar suas listas e seus respectivos programas de controle, prevenção, e erradicação de enfermidades, além de preparar os sistemas de saúde e de vigilância para a atenção à saúde e notificação dos casos. No Brasil, a IN 50 de 24 de setembro de 2013 prevê que a notificação é obrigatória para qualquer cidadão, bem como para todo profissional que atue na área de diagnóstico, ensino ou pesquisa em saúde animal ou instituição que tenha conhecimento de algum caso suspeito das doenças listadas como obrigatórias e que o serviço veterinário oficial deverá manter os meios necessários para captação e registro dessas notificações (BRASIL, 2013).

O Sistema Nacional de Informação Zoosanitária – SIZ, mantem um banco de dados com as informações obtidas por meio da lista de doenças de notificação obrigatória oriundas do Serviço Veterinário Oficial – SVO, cujos dados também vem através de atendimentos realizados pelos profissionais da iniciativa privada (ligados à área da saúde animal), de trabalhos envolvidos por instituições parceiras de ensino e pesquisa e de demais instituições públicas (BRASIL, 2013).

Essas notificações são de extrema importância por caracterizarem-se como fonte de informação espontânea e por revelarem a preocupação dos notificantes com a saúde animal, bem como por demonstrarem confiança no serviço de vigilância oficial do seu estado (CHAVES *et al*., 2016), mas é necessário que aqueles envolvidos diretamente com sanidade animal estejam conscientes da importância da notificação obrigatória de doenças e conheçam os meios e prazos parainforma-las aos órgãos competentes.

A notificação é habitualmente realizada de modo precário, pelo desconhecimento de sua importância, descrédito nos serviços de saúde animal, falta de acompanhamento e supervisão da rede de serviços, pela falta de retomo dos dados

coletados e das ações que foram geradas pela análise. Neste sentido, é fundamental que trabalhos de sensibilização dos profissionais e das comunidades sejam sistematicamente realizados visando melhorar a quantidade e a qualidade dos dados obtidos. Desta forma se fortalece e amplia a rede de notificação, pois idealmente, o sistema deve cobrir toda a população (ADAPAR, 2014).

O primeiro passo para sensibilizar esse público que se quer atingir é identificando a percepção do mesmo diante da obrigatoriedade das notificações e os entraves que vem dificultando a captação dessas informações pelo SVO.

Identificar a percepção dos estudantes, profissionais das instituições de ensino de Medicina Veterinária e dos veterinários autônomos do Estado de Sergipe quanto à notificação obrigatória de doenças de animais ao Serviço Veterinário Oficial.

2. METODOLOGIA

2.1 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

O estudo foi conduzido no segundo semestre de 2019 nas instituições de Ensino Superior de Medicina Veterinária e para os veterinários envolvidos com o Serviço Veterinário Oficial do Estado de Sergipe.

2.2 PARTICIPANTES DO ESTUDO

Foram contatados estudantes de Medicina Veterinária que estivessem cursando a partir do 7º semestre e profissionais formados que atuassem como técnicos, professores e/ou pesquisadores durante o ano de 2019 nas instituições de ensino de Medicina Veterinária do Estado de Sergipe. Participaram ainda veterinários autônomos com vínculo no Serviço Veterinário Oficial, como: médicos veterinários habilitados/cadastrados nos programas sanitários do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e aqueles com função de Responsável Técnico de estabelecimentos de criação de animais de produção.

2.3 COLETA DOS DADOS

Foi aplicado um questionário semi-estruturado (Apêndice A) abordando perguntas sobre notificação obrigatória de doenças de animais e algumas com o intuito de caracterizar o perfil dos participantes, embora não permita a identificação dos mesmos.

2.4 BANCO DE DADOS

As informações obtidas pelo questionário foram inseridas em um banco de dados excel, organizadas e compiladas para posterior análise estatística, cálculos

percentuais, confecção de gráficos e análise de conteúdo na questão aberta, segundo Bardin (1977).

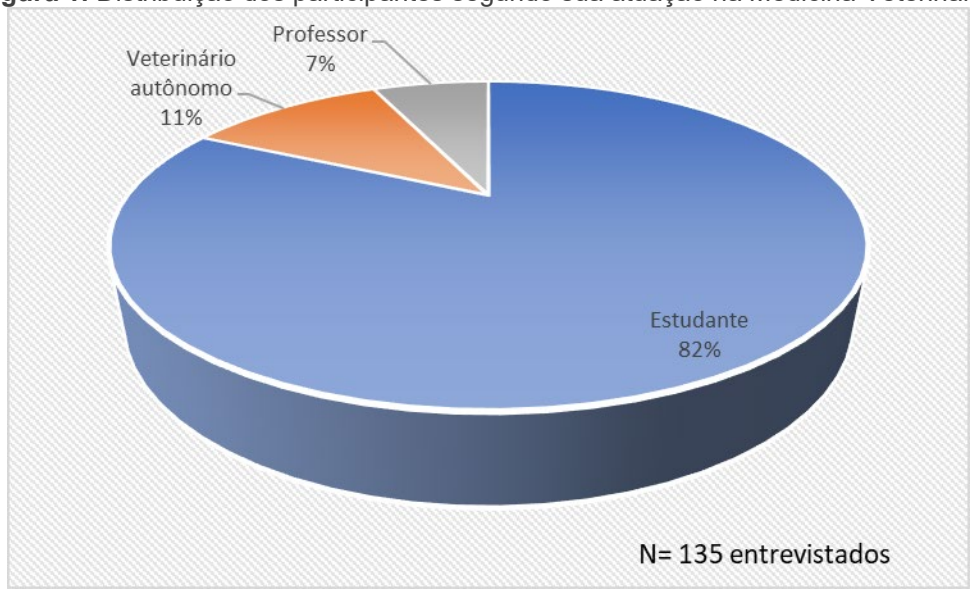
2.5 ASPECTOS ÉTICOS

Em conformidade com a Resolução nº 466 de 12 de dezembro de 2012, os participantes foram esclarecidos quanto aos objetivos do projeto e sobre o anonimato no preenchimento do formulário, sendo necessária sua autorização mediante Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e autorização do comitê de ética sob número: CAAE 15244819.6.0000.5546.

2. RESULTADOS

Durante a execução do plano de trabalho, foram entrevistados 135 participantes que concordaram previamente em responder o questionário após explanação sobre a pesquisa e aceitação mediante assinatura do TCLE. Destes, 64 % eram do sexo feminino e cerca de 65 % estavam na faixa etária entre 20 e 25 anos e 91 % residem no estado de Sergipe. A distribuição dos participantes por atuação na medicina veterinária está demonstrada na Figura 1.

Figura 1: Distribuição dos participantes segundo sua atuação na Medicina Veterinária.



Fonte: Os Autores.

A pesquisa procurava identificar se o participante tinha conhecimento sobre a Lista de Doenças de Notificação Obrigatória dos animais, sendo que das 135 pessoas participantes, apenas 17 responderam que não tinham conhecimento. Porém, mesmo que 87 % dos entrevistados tenham dito que conhecem a lista, só 58 entrevistados

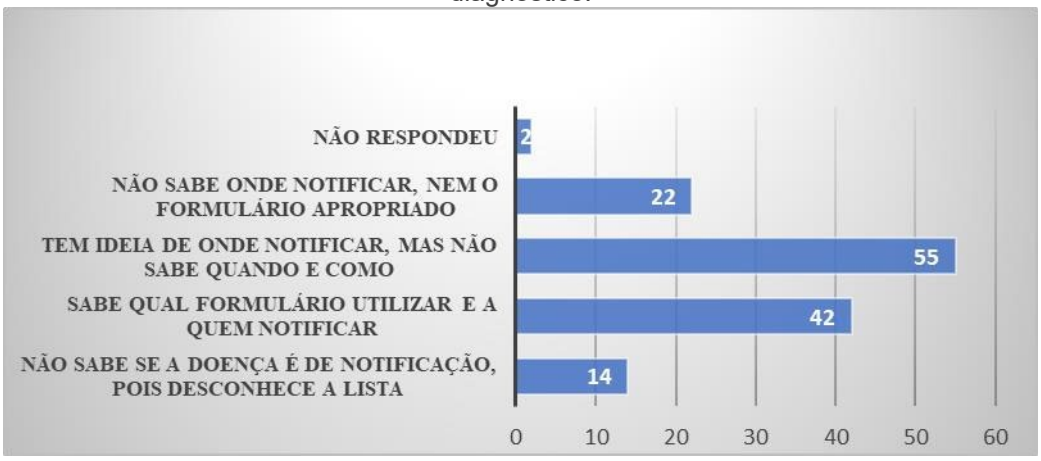
(43 %) sabiam que a notificação dessas doenças deve ser feita por qualquer cidadão ou instituição que tenha conhecimento dos casos suspeitos (Figura 2).

Figura 2: Conhecimento dos entrevistados sobre quem é habilitado para notificar doenças da lista da OIE.

Fonte: Os Autores.

Uma outra pergunta foi, caso a pessoa se deparasse com um diagnóstico de alguma doença animal contemplada na lista, se ela teria noção de como e quando notificar. A Figura 3 demonstra que apenas 42 participantes da pesquisa sabem exatamente qual formulário utilizar e como notificar uma doença, enquanto 69 % dos entrevistados não tem plena certeza de como nem quando notificar.

Figura 3: Distribuição dos entrevistados sobre como conduzir uma notificação ao se obter um diagnóstico.

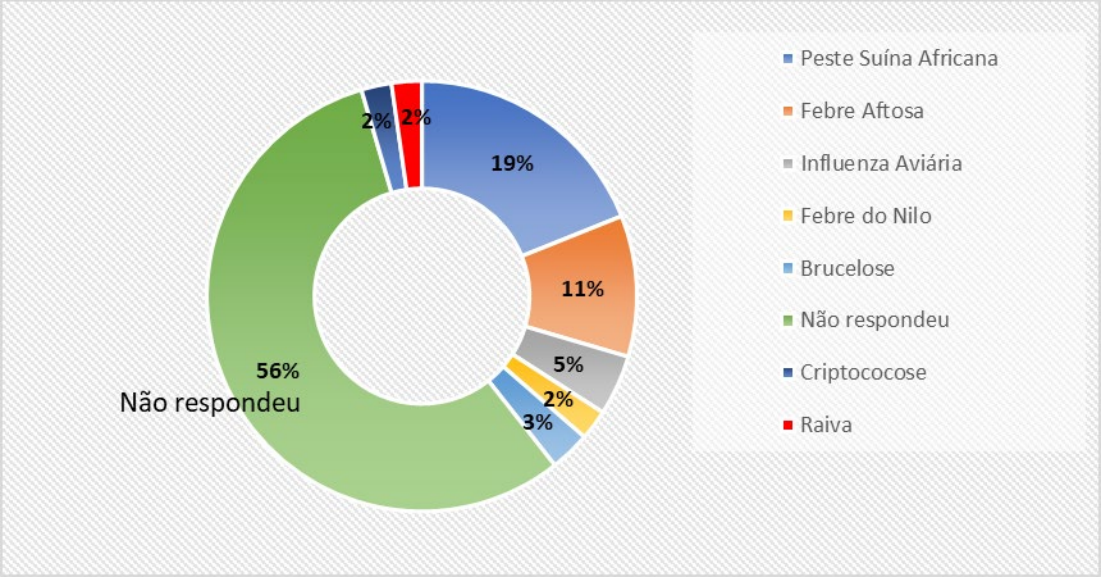


Fonte: Os Autores.

Ao solicitar que o participante listasse doenças exóticas ou já erradicadas no Brasil, obtivemos os seguintes resultados que podem ser visualizados na Figura 4, onde 19 % listaram corretamente a Peste Suína Africana – PSA, e 5 % influenza aviária, mas doenças como Febre Aftosa, Raiva e Brucelose foram relacionadas

equivocadamente como doenças exóticas ou já erradicadas no Brasil.

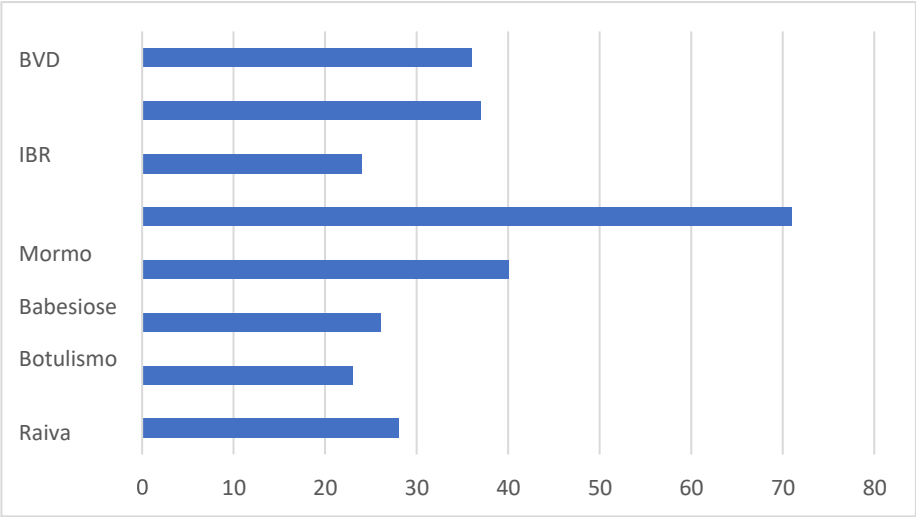
Figura 4: Doenças consideradas erradicadas ou exóticas no Brasil pelos entrevistados.



Fonte: Os Autores.

Quanto às doenças que não necessitam de intervenção imediata do Serviço Veterinário Oficial na propriedade e podem ser notificadas de forma mensal, as respostas podem ser observadas na Figura 5.

Figura 5: Doenças de notificação obrigatória que não necessitam intervenção imediata do SVO sob a percepção dos estudantes e profissionais da medicina veterinária do estado de Sergipe.



Fonte: Os Autores.

Avaliando as respostas obtidas nesta questão, a grande maioria dos

participantes responderam corretamente sobre quais doenças podem ser notificadas mensalmente. Que são: BVD, IBR, babesiose e botulismo. Pois as mesmas não têm tanto impacto socioeconômico na população nem são zoonoses importantes. Porém, 35 % das citações se referiam a raiva, tuberculose bovina, mormo e newcastle, doenças que pela importância zoonótica ou econômica muito relevantes, devem ser notificadas em até 24h e requer a intervenção imediata do SVO para que as medidas sanitárias sejam efetivas e capazes de conter a disseminação do patógeno.

Uma outra abordagem feita para os participantes foi em relação às principais dificuldades encontradas por eles no processo da notificação. As respostas podem ser verificadas na Figura 6. Um dado relevante é que nenhum dos 135 participantes assinalou a opção de que não vê importância na notificação de doenças, o que significa que 100 % dos entrevistados consideram importante notificar. Das dificuldades com maiores frequências estão a falta de divulgação por parte do SVO, pouca integração entre o SVO e as instituições de ensino e o pouco conhecimento do assunto de forma geral(Figura 6).

Figura 6: Principais dificuldades apontadas pelos entrevistados para notificar doenças.

Fonte: Os Autores.

Dos 135 participantes da pesquisa, 91 deram sugestões/opiniões (alguns sugeriram mais de um elemento) de como melhorar o sistema de captação e registro de notificações de doenças no estado de Sergipe, sendo 53 % relacionadas a uma melhor divulgação para a sociedade em geral, como produtores, funcionários de casas agropecuárias, veterinários, laboratórios, escolas, etc. Daqueles que sugeriram uma

melhor divulgação sobre as doenças de notificação, 20 % destacaram a necessidade de discutir mais sobre esses assuntos nas universidades, justificando que os egressos já estariam cientes dos procedimentos quando fossem atuar na área de clínica e diagnóstico de doenças. Esses 20 % corresponderam em quase sua totalidade ao grupo de estudantes de uma faculdade de veterinária privada.

Outro elemento sugerido em 10,4 % das respostas dos entrevistados é o treinamento gratuito de médicos veterinários, sejam eles autônomos, do setor público ou privado. Na mesma proporção foi também sugerida a melhoria da vigilância epidemiológica pelo Serviço Veterinário Oficial, seja mediante contratação ou concurso de mais veterinários, aumentando a capilaridade do serviço nos municípios ou pela melhoria na infraestrutura do órgão. Outros 9,6 % das respostas se referiam a intensificar as fiscalizações pelo órgão de defesa sanitária animal.

A maior integração entre instituições como universidades, Conselho Regional de Medicina Veterinária, Serviço Veterinário Oficial e associações ou sindicatos de produtores foi mencionada em 7,3 % das respostas como uma importante forma de melhorar a captação das notificações de doenças. Quase com a mesma expressividade, a melhoria e disponibilização de ferramentas atualmente mais acessíveis, como aplicativos virtuais e *softwares*, foi relacionada pelos participantes da pesquisa.

Pequenos percentuais (menos de 3 %) foram observados nos seguintes elementos: chamar o veterinário mais urgentemente ao observar sinais clínicos nos animais, elaborar pesquisas para detectar as doenças em animais, tendo como público-alvo os produtores rurais e ampliar o cadastro pecuário.

4. DISCUSSÃO

Em razão da necessidade de mais informação sobre doenças de notificação obrigatória, vale ressaltar que a educação sanitária é essencial para se conseguir êxito na execução de qualquer programa de saúde animal. Rossi & Tavares, 2014, relataram que o serviço veterinário oficial de Santa Catarina realizou atividades de educação sanitária centradas na doença de Aujeszky para que os produtores pudessem notificar rapidamente quando surgissem os primeiros sinais clínicos em seus rebanhos, sendo provavelmente um fator relevante para o combate da enfermidade no estado e auxiliando na manutenção da competitividade do setor suinícola. Para Fontana *et al.* (2014), a educação sanitária auxilia na conscientização

dos produtores e das autoridades municipais sobre a prevenção de doenças que acarretem prejuízos econômicos ou riscos à saúde pública devido ao caráter zoonótico, refletindo diretamente no status sanitário dos rebanhos e na promoção da saúde humana.

Analisando sistemas de notificação de sanidade avícola no estado de Sergipe, Oliveira *et al.* (2016) destacam a necessidade de atividades de educação sanitária nos municípios onde ocorre maior fluxo de comercialização de aves, buscando registrar maior número de doenças prováveis e, assim, permitir que o serviço veterinário oficial realize a vigilância de forma mais eficaz.

No entanto, essas ações educativas tornam-se mais eficientes quando se realiza um diagnóstico prévio do público-alvo que se quer atingir, caso contrário, práticas inadequadas podem causar desinteresse nas ações de defesa sanitária, como relatado por Moura *et al.* (2014) em um trabalho caracterizando o perfil dos produtores inadimplentes com relação à Febre Aftosa, onde os mesmos são em sua maioria analfabetos, desconhecem o calendário oficial de vacinação e preferem treinamentos com práticas. Semelhante a este estudo, a caracterização de uma determinada comunidade do estado do Maranhão identificou que muitos desconhecem sobre a transmissão, sintomas e profilaxia da raiva. Esse diagnóstico educativo foi considerado uma ótima ferramenta para auxiliar na elaboração de projetos educativos que poderão ser implantados nas comunidades rurais (SANTANA *et al*., 2014). Corroborando esses estudos, Diniz *et al*. (2009) ao transcrever uma aula da educadora brasileira Hortensia Hurpia de Hollanda, relata que a educação sanitária tem que se basear nos contatos pessoais, na aproximação dos grupos primários e na elaboração de programas coordenados com outras entidades – a escola, a igreja, as organizações de fomento agrícola, e outras. Ainda sobre diagnóstico como forma de embasar programas de educação em saúde, Rocha & Improta (2014) constataram que os professores das escolas rurais de Joinville desconhecem as zoonoses (brucelose, tuberculose e raiva), as espécies envolvidas, a transmissão das doenças, os sinais clínicos e as formas de prevenção, além de não conhecem as atribuições do serviço veterinário oficial do estado de Santa Catarina. Os autores concluíram que é necessário implantar um projeto educativo-sanitário inter e multidisciplinar nas escolas, que aborde o tema zoonoses como conteúdo transversal à grade curricular de forma teórico-prática. Isso facilitará o aprendizado das disciplinas básicas, à medida que forem trabalhados conceitos e práticas sanitárias, a

partir da realidade do aluno.

Quanto à integração entre as instituições de ensino, serviço veterinário oficial, médicos veterinários e produtores, Matos *et al.* (2014a) perceberam que a integração do setor produtivo com o SVO contribuiu para a manutenção do status sanitário de livre de Peste Suína Clássica, interferindo positivamente na viabilização das exportações e conquista de novos mercados consumidores. A necessidade de integração entre o SVO e os produtores rurais foi relatada por Matos *et. al.* (2014b) apesar de bons resultados nas notificações de doenças de suínos. O envolvimento dos médicos veterinários da iniciativa privada com o SVO contribui para uma melhor gestão dos eventos sanitários no estado de Santa Catarina (MEDITISCH *et al.*, 2014). Outro trabalho conduzido nesse estado analisando a distribuição dos estabelecimentos avícolas com as notificações de mortalidade nas 20 administrações regionais (ADRs) do SVO, constatou-se que houve um maior número de notificações nas 3 ADRs com um maior comprometimento do setor produtivo e o órgão de defesa (MACIEL *et al.*, 2014). Em um estudo sobre a análise de risco como ferramenta estratégica para o SVO, Santos *et al.* (2014) ressaltam que a integração entre universidade e SVO deve ser estimulada.

Sobre melhorar as ferramentas para captação das notificações, foi disponibilizado pelo MAPA em janeiro de 2020 o e-SISBRAVET, uma ferramenta eletrônica específica para gestão dos dados obtidos na vigilância passiva em saúde animal, desenvolvida para o registro e acompanhamento das notificações imediatas de suspeitas de doenças e das investigações realizadas pelo Serviço Veterinário Oficial (BRASIL, 2020). Por esse meio eletrônico a notificação é imediatamente encaminhada para o SVO do estado da causa suspeita ou confirmada, a fim de permitir a investigação oficial e a pronta resposta conforme a necessidade de controle ou erradicação estabelecidos pelo órgão competente.

Parte dos entrevistados não levou em consideração que zoonoses importantes devem ser notificadas em até 24 horas, como por exemplo a Raiva, cujos proprietários devem informar ao SVO suspeitas de doenças nervosas em herbívoros, espoliação por morcegos hematófagos e presença de abrigos de morcegos em suas propriedades. O SVO por sua vez, deve prestar atendimento imediato a suspeita, colhendo material biológico para diagnóstico, realizando controle populacional de morcegos se necessário e orientações sobre vacinação antirrábica do rebanho (SOUSA, 2019).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A notificação obrigatória ao serviço veterinário oficial é fundamental para o controle ou erradicação de doenças sob a ótica de estudantes, professores e técnicos das instituições de ensino damedicina veterinária do estado de Sergipe, bem como para veterinários do setor público ou privado. No entanto, na percepção desses atores, ainda é necessária uma melhor divulgação sobre as doenças (especialmente as zoonóticas), sobre as formas de notificação e os respectivos formulários e meios para efetivá-las, além de uma melhor integração entre as instituições como universidades, SVO, médicos veterinários e produtores rurais. Para estes últimos, as atividades de educação sanitária devem ser priorizadas e adequadas.

Treinamento especializado para os profissionais envolvidos, aumento da capilaridade do serviço mediante contratações de veterinários nos municípios e investimentos na infraestrutura do SVO que reflitam em melhorias na vigilância epidemiológica também ajudariam a aprimorar a captação e registro das notificações de doenças dos animais no estado de Sergipe.

REFERÊNCIAS

ADAPAR. Manual de epidemiologia veterinária e sistemas de informação em saúde animal. Disponível em: http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/GSA/EPIDEMIOLOGIA/EPIDEMIOLOGIA_MANUAL_versao_2014a.pdf. Acesso em: 04 abr. 2018.

BARDIN, Laurence. **Análise de conteúdo**. Lisboa: Edições 70, 1977.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução** Normativa nº 50, de 24 de setembro de 2013. Lista de doenças de notificação obrigatória ao **Serviço Veterinário Oficial**. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília: MAPA, p.47, 25 set. 2013. Seção 1. 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Sistema de Informação em Saúde Animal**. Brasília: MAPA, 2017. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/sistema- informacao-saude-animal. Acesso em: 03 mai. 2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **E-SISBRAVET:** Manual do Usuário. Brasília: MAPA, p. 4-5. 2020.

CASTRO, R. C. F. **Comunicação Científica na Área de Saúde Pública:** Perspectivas para a tomada de decisão em saúde baseada em conhecimento. 2003. Tese (Doutorado) – Departamento de Práticade Saúde Pública, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

CHAVES, N. P. *et al*. Doenças de notificação compulsória em animais de produção no período de 2011 a 2014 no Estado do Maranhão. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária,** Rio de Janeiro, v.23, n.1, p. 31-36, jan./jun. 2016.

DINIZ, M. C.; FIGUEIREDO, B. G. ; SCHALL, V. T. **Educação sanitária na profilaxia das endemias rurais por Hortênsia Hurpia de Hollanda, 1956**. História, Ciências, Saúde. v.16, n.2, abr.-jun. 2009, p.533-556.

FONTANA, F.Z.; MACAGNAN, M.; BAUMGARTEN, K.D. A importância do sistema de identificação de bovinos na atuação do Serviço de Defesa Sanitária Animal na prevenção e controle da tuberculose bovina. Relato de caso. *In*: CONFERÊNCIA NACIONAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA, 5., 2014, Florianópolis. **Anais [**...**]** Florianópolis: Defesa agropecuária a serviçode um Estado de excelência, 2014. p. 24.

MACIEL, P.B. *et al*. Distribuição espacial das notificações de suspeitas de síndrome respiratória e nervosa das aves por estabelecimentos de aves comerciais de corte no ano de 2013. *In*: CONFERÊNCIA NACIONAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA, 5., 2014, Florianópolis. **Anais [**...**]** Florianópolis: Defesa agropecuária a serviço de um Estado de excelência, 2014. p. 94.

MARTINS, N.R.S. *et al*. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia:** Sanidade Avícola. BeloHorizonte, MG; FEPMVZ, n 76, 140 p. 2015.

MATOS, C.S.D.; MEDITSCH, R.G.M.; HORSTMANN, R. Notificações de suspeitas de doenças hemorrágicas dos suínos ao serviço veterinário oficial de Santa Catarina, no período de janeiro 2010 a junho de 2014. *In*: CONFERÊNCIA NACIONAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA, 5., 2014, Florianópolis. **Anais [**...**]** Florianópolis: Defesa agropecuária a serviço de um Estado de excelência, 2014a. p. 67.

MATOS, C.S.D.; MEDITSCH, R.G.M.; HORSTMANN, R. Notificações de suspeitas de doenças vesiculares ao serviço veterinário oficial de Santa Catarina, no período de janeiro de 2010 a junho de2014. *In*: CONFERÊNCIA NACIONAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA, 5., 2014b, Florianópolis. **Anais [**...**]** Florianópolis: Defesa agropecuária a serviço de um Estado de excelência, 2014. p. 68.

MEDITSCH, R. *et al*. Doenças de suínos notificadas ao serviço veterinário oficial de Santa Catarinadurante o período de janeiro de 2012 a junho de 2014. *In*: CONFERÊNCIA NACIONAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA, 5., 2014, Florianópolis. **Anais [**...**]** Florianópolis: Defesa agropecuáriaa serviço de um Estado de excelência, 2014. p. 79.

MOURA. A.M. *et al*. Educação na defesa sanitária da Febre Aftosa: Nível de engajamento dos produtores rurais do município de São Bento – Baixada Maranhense. *In*: CONFERÊNCIA NACIONAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA, 5., 2014, Florianópolis. **Anais [**...**]** Florianópolis: Defesa agropecuária a serviço de um Estado de excelência, 2014. p. 38.

OLIVEIRA, V.L.M. *et al*. Analysis of poultry transit, notification systems and legislation in the stateof. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.83, p. 6-7. Sergipe, 2016.

ROCHA, T.S.; IMPROTA, C.T.R. Diagnóstico educativo sobre zoonoses de interesse da Defesa Sanitária Animal, em escolas rurais do município de Joinville/SC. *In*: CONFERÊNCIA NACIONAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA, 5., 2014, Florianópolis. **Anais [**...**]** Florianópolis: Defesa agropecuária a serviço de um Estado de excelência, 2014. p. 90.

ROSSI, K. S.; TAVARES, S. G. Estudo do processo de erradicação da doença de Aujeszky em SantaCatarina: Análise de dados laboratoriais de granjas de produtores de suínos certificadas em 2005 a 2012. *In*: CONFERÊNCIA NACIONAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA, 5., 2014, Florianópolis.

Anais [...**]** Florianópolis: Defesa agropecuária a serviço de um Estado de excelência, 2014. p. 21.

SANTANA, S.S. *et al*. Diagnóstico educativo sobre raiva dos herbívoros junto aos moradores e criadores da comunidade Canto, Raposa-MA. *In*: CONFERÊNCIA NACIONAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA, 5., 2014, Florianópolis. **Anais [**...**]** Florianópolis: Defesa agropecuária a serviçode um Estado de excelência, 2014. p. 80.

SANTOS, D. V. *et al*. A análise de risco como ferramenta estratégica para o serviço veterinário oficialbrasileiro: dificuldades e desafios. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, n. 6, p. 550-551, jun. 2014.

SOUSA, N. D. Francisco. **Epidemiologia e Distribuição Espacial da Raiva em Herbívoros no Estado de Pernambuco, Brasil**. 2019. p. 13-14. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

SOBRE O ORGANIZADOR

Edilson Antonio Catapan: Doutor e Mestre em Engenharia da Produção pela Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC (2005 e 2001), Especialista em Gestão de Concessionárias de Energia Elétrica pela Universidade Federal do Paraná - UFPR (1997), Especialista em Engenharia Econômica pela Faculdade de Administração e Economia - FAE (1987) e Graduado em Administração pela Universidade Positivo (1984). Foi Executivo de Finanças por 33 anos (1980 a 2013) da Companhia Paranaense de Energia - COPEL/PR. Atuou como Coordenador do Curso de Administração da Faculdade da Indústria da Federação das Indústrias do Paraná - FIEP e Coordenador de Cursos de Pós-Graduação da FIEP. Foi Professor da UTFPR (CEFET/PR) de 1986 a 1998 e da PUCPR entre 1999 a 2008. Membro do Conselho Editorial da Revista Espaço e Energia, avaliador de Artigos do Encontro Nacional de Engenharia de Produção - ENEGEP e do Congresso Nacional de Excelência em Gestão - CNEG. Também atua como Editor Chefe das seguintes Revistas Acadêmicas: Brazilian Journal of Development, Brazilian Applied Science Review e Brazilian Journal of Health Review.

Agência Brasileira ISBN
ISBN: 978-65-86230-76-5